Aus dem Physiologischen Institut der Universität Tübingen
Ehem. Direktor: Professor Dr. med. Karl Brecht

Untersuchungen über Serotoninantagonisten an der Froschlunge

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Theoretische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Jan Augustin
aus Schleswig

1971

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547609_0087

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Tübingen
Ehem. Direktor: Professor Dr. med. Karl Brecht

Untersuchungen über Serotoninantagonisten an der Froschlunge

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Theoretische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Jan Augustin
aus Schleswig

1971

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. H.J. Knüttgen

Berichterstatter: Professor Dr. K. Brecht

FOTODRUCK PRÄZIS Barbara v. Spangenberg KG · Tübingen

Meinen Eltern gewidmet

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
A. Einleitung	1 - 3
B. Methodik	3 - 6
C. Serotoninantagonisten	6 - 8
D. Ergebnisse	8 - 35
a) Substanzen ohne serotoninantagonistische Wirkung an der Froschlunge	8 - 18
b) Substanzen mit serotoninantagonistischer Wirkung an der Froschlunge	18 - 34
c) Spezifität der Serotoninantagonisten	34 - 35
E. Diskussion	36 - 44
F. Zusammenfassung	45
G. Abbildungen	46 - 51
H. Literaturverzeichnis	52 - 60

A. Einleitung

Als vor etwa 18 Jahren das Serotonin in die Liste der biologisch weit verbreiteten und wirksamen sogenannten biogenen Amine eingereiht wurde, stand es bald im Brennpunkt des allgemeinen Interesses. Umfangreiches Material wurde über dieses Hormon wie auch über viele andere Indolverbindungen bekannt, das sich der Erforschung der möglichen physiologischen und pathologischen Rolle dieser Substanzen widmete. Außer der zentralnervösen Wirkung des Serotonins rückt vor allem seine Einflußnahme auf glatte Muskelzellen in den Vordergrund. Hierbei handelt es sich insbesondere um Testpräparate von Darm, Uterus, Bronchien und Gefäßen verschiedener Tierspezies, die eine Reizung durch Serotonin im allgemeinen mit einer Kontraktion beantworten. Seltener zeigten sich erschlaffende Effekte, doch konnten sie an Mollusken (Twarog 1954, 1960, 1967) sowie am Dorsalmuskel des Blutegel nachgewiesen werden. Ein ähnliches, aber noch ausgeprägteres Verhalten konnte auch im Bereich niederer Wirbeltiere nachgewiesen werden: Die glatte Muskulatur der Froschlunge reagiert noch auf sehr geringe Serotoninkonzentrationen mit einer starken Erschlaffung (Brecht, K. u. D. Jeschke 1962).

Die Froschlunge, ein glatt-muskuläres Hohlorgan, wurde vor längerer Zeit als Versuchsobjekt in die Physiologie eingeführt und zu umfangreichen Untersuchungen herangezogen (Dijkstra, M. u. Noyons, A.K.M., 1939; Brecht, K. et al. 1940-1948; Corsten, M. 1940; Kadatz, R. 1949; Brecht, K. u. Jeschke, D. 1962; Jeschke, D. Dissertation 1962; Brecht, K. u. Jeschke, D. 1965; Krauss, D. Dissertation 1966; Schnizer, W. Dissertation 1966), insbesondere, was ihre Beeinflußbarkeit sowohl durch elektrische Reize als auch durch Pharmaka anbelangt. Mehrere Arten der Reizapplikation erwiesen sich als sinnvoll; einmal kann eine direkte oder indirekte elektrische Stimulierung erfolgen, andererseits lassen sich Testsubstanzen erproben, indem man sie am sogenannten Durchströmungspräparat dem Gefäßsystem zuführt.

Besonders geeignet erwies sich auch die von Gaddum (1953) beschriebene Übertropfmethode, die an diesem Institut für die an der Froschlunge vorliegenden Verhältnisse weiterentwickelt wurde (Jeschke, D. Dissertation 1962) und sich als Versuchsanordnung auch für diese Arbeit anbot.

Die Froschlunge wird durch die Fasern des Vagosympathikus innerviert, wobei ein Kontraktions- sowie ein Relaxationssystem wirksam ist. Nur die Frage entsprechender adrenerger sowie cholinerger Transmitter konnte bisher nicht geklärt werden. Acetylcholin wirkt, wenngleich auch mit jahreszeitlichen Unterschieden, immer kontrahierend (Dijkstra, C. u. Noyons, A.K.M. 1939; Corsten, M. 1940; Brecht, K. 1940-1948; Jeschke, D. Dissertation 1962), Adrenalin dagegen wirkt wesentlich schwächer und außerdem mit variablen Effekten: Kontraktion wie auch Erschlaffung. Hier bot sich nun das Serotonin an, einmal wegen seiner spezifisch relaxierenden Wirkung an der Froschlunge, zum anderen auch wegen der extrem geringen Dosis, mit der dieser Effekt erzielt werden kann (Brecht, K. u. Jeschke, D. 1962). Die Möglichkeit einer serotoninergischen Innervation der glatten Muskulatur der Froschlunge ergab die Frage nach einem spezifischen Substrat, das eine besondere Affinität gegenüber dem Agens aufweist, in der Pharmakologie als sogenannter Rezeptor bekannt, der in diesem Fall serotoninaffin sein müßte. Dieser Frage ist in der folgenden Arbeit ein ausführliches Kapitel gewidmet.

Die Bedeutung der Serotoninantagonisten liegt vor allem darin, daß sie die physiologische und pathologische Rolle dieses biogenen Amins zu analysieren und zu definieren erlauben. Dadurch, daß die Zahl der biologisch aktiven Katechol- und Indolamine immer mehr wuchs, wurde es wichtig, selektive, charakteristische Antagonisten möglichst für jede dieser Verbindungen entweder synthetisch herzustellen oder aber im Organismus selbst zu finden. Antagonisten, welche die strengen Kriterien eines hohen Grades an Selektivität erfüllen, können von großem Wert sein, die Effekte verschiedener Indolalkylamine

in vivo und in vitro zu analysieren. Was nun die Serotoninwirkung an der Froschlunge anbelangt, so zeigten bisherige Versuche (Brecht, K. u. Jeschke, D. 1965) die völlige Unfähigkeit einiger herkömmlicher Serotoninantagonisten, die Erschlaffung der Lunge durch Serotonin zu hemmen, so daß auch die Frage nach spezifischen Serotoninblockern bisher unbeantwortet bleiben mußte. Gleichermaßen verliefen auch die Arbeiten von M. Twarog (1967) an Mollusken.

Die vorliegende Arbeit bemüht sich nun um eine Erfassung spezifischer Antagonisten des Serotonins an der Froschlunge, die auch zur Klärung der Wirkungsmechanismen dieser Substanz an glatten Muskelzellen beitragen könnte, womit gleichzeitig eine Aussage über spezifische Serotoninrezeptoren an der Froschlunge möglich wäre.

B. Methodik

Die Untersuchungen wurden an männlichen und weiblichen Ranae esculentae durchgeführt.

1. Herstellung des Lungenpräparates:

Der Frosch wurde dekapitiert, Rückenmark und Gehirn ausgebohrt. Dann wurde der Thorax eröffnet, die Lungen wurden an der Spitze mit einer Pinzette gefaßt und nach Lösen der Pleuraverbindungen am Hilus abgetrennt. Hierbei wurde besondere Sorgfalt darauf verwandt, die Lunge nicht zu dehnen. Dann wurden die Präparate grundsätzlich eine Stunde lang in Normalringer Lösung (NR) gelegt. Es hatte sich nämlich gezeigt, daß die Lungen bei Thoraxeröffnung einen unterschiedlichen, oft geringen Tonus hatten, der sich dann während des Bades steigern konnte, was sich für die Verwendbarkeit des Präparates als günstig erwies. Nach dem Bade wurde an der Spitze ein feiner Zwirnsfaden angeschlungen (Corsten, M. 1940), die Lungenbasis wurde zeltartig mit Igelstacheln auf einem Stück Kork befestigt. Der Zwirnsfaden wurde mit einem isotonischen Hebelsystem verbunden. Ein Stirnschreiber zeichnete die mechanischen Reaktionen kymographisch auf. Die Kymogeschwindigkeit betrug 2 mm pro Minute.

2. Übertropfmethode:

Für diese Arbeit wurde die von Gaddum 1953 eingeführte Übertropfmethode angewandt, die für die Erfordernisse an der Froschlunge von Brecht und Jeschke weiterentwickelt wurde (ausführliche Beschreibung s.a. Dissertation Jeschke 1962). Eine elektrische Pumpe ließ eine definierte Lösung mit einem konstanten Volumen von 0,375 ml/min über das Präparat tropfen, wobei besonders beachtet wurde, daß die Lösungen möglichst kontinuierlich an dem Zwirnsfaden herabliefen, der die Lunge mit dem isotonischen Hebel verband. Hierdurch wurden allzugroße Erschütterungen vermieden. Mit Hilfe eines besonderen Schalthahnes konnte man wahlweise NR tropfen lassen oder auf eine Testlösung umschalten, die eine definierte Menge, z.B. Serotonin, zuführte.

3. Ausführung der Versuche:

a) Erprobung der antagonistischen Wirkung

Die befestigten Lungen wurden so lange mit NR übertropft, bis sich ein bestimmter kontinuierlicher Tonus eingestellt hatte, was am Kymo als eine horizontal fortlaufende Linie ersichtlich war. Dann wurde der Hahn umgeschaltet, so daß 3 ml NR + 10^{-6} g/ml Serotonin über die Lunge flossen. Nach erfolgter Erschlaffung tropfte wieder NR und die Lungen kontrahierten sich auf den Ausgangszustand. Dieser Versuch wurde sofort wiederholt, bis eine dieser Serotoninmenge entsprechende konstant hohe Erschlaffungsamplitude zustande kam. Es hatte sich nämlich gezeigt, daß, entgegen Beobachtungen an anderen Präparaten, die Froschlungen auf die Applikation von Serotonin mit einer zunehmenden Sensibilisierung reagierten. Erst nach diesen Vorversuchen erfolgte die Testung einer Substanz als möglicher Serotoninantagonist. Der Hahn wurde umgeschaltet auf NR + 10^{-4} g/ml Testsubstanz (mögl. Antagonist). Diese Lösung tropfte mindestens 2 Std. mit der schon erwähnten Geschwindigkeit von 0,375 ml/min über die Lungen, so daß eine ausreichende Incubation des Präparates mit der Testsubstanz erreicht wurde. Dann wurde umgeschaltet auf NR + 10^{-4} g/ml Test-

substanz (mögl. Antagonist) + 10^{-6} g/ml Serotonin. Erfolgte daraufhin eine normale Erschlaffung, war die Substanz wirkungslos. Im Falle einer Förderung oder Hemmung mußte die Amplitude der Erschlaffung größer oder kleiner werden.

b) Zeitverlauf der Hemmung und Reversibilität

Im Falle einer antagonistischen Wirkung der Testsubstanz wurde diese einer eingehenden Prüfung unterzogen. Nach den üblichen Vorkehrungen wurde wieder auf NR + 10^{-4} g/ml Testsubstanz umgeschaltet, in Abständen von 30 min dann auf NR + 10^{-4} g/ml Testsubstanz + 10^{-6} g/ml Serotonin. Dies wurde sooft wiederholt, bis eine gleichmäßige Hemmung auftrat. Dann wurde wieder auf NR umgeschaltet und wiederum in Abständen von 30 min auf NR + 10^{-6} g/ml Serotonin. Dies wurde ebenfalls sooft wiederholt, bis eine gleichmäßige Erschlaffung auftrat. Hieran konnte dann die Reversibilität geprüft werden. Dieser Versuch wurde mit einer Lösung NR + 10^{-5} g/ml Testsubstanz wiederholt.

c) Dosis - Wirkungskurven

Um entsprechende Werte für diese Art der graphischen Darstellung zu erlangen, wurden nach den anfänglichen Vorkehrungen nacheinander NR + Serotonin 10^{-6}, 5 x 10^{-7} und 10^{-7} g/ml in Abständen gegeben, die ausreichten, um die Lungen sich jeweils auf ihr altes Niveau kontrahieren zu lassen. Dann wurde auf NR + 10^{-4} g/ml Testsubstanz umgeschaltet und nach 2 Std. wiederum in ausreichenden Abständen auf NR + 10^{-4} g/ml Testsubstanz + Serotonin 10^{-7}, 5 x 10^{-7} und 10^{-6} g/ml. Diese Versuche wurden außerdem ausgeführt in den Konzentrationen 5 x 10^{-5}, 10^{-5} und 5 x 10^{-6} g/ml Testsubstanz.

4. Lösungen:

Die Zusammensetzung der Normalringerlösung war:

115 mmol/l NaCl
2,5 mmol/l KCl
1,8 mmol/l $CaCl_2$
2,15 mmol/l Na_2HPO_4 Einstellung auf pH 7,1
0,85 mmol/l NaH_2PO_4

Da das Präparat auf osmotische Änderungen sehr empfindlich reagiert (Jeschke, D. Dissertation 1962) wurde der osmotische Druck der Lösung laufend überprüft und auf 220 mosmol/l eingestellt.
Die Testsubstanzen wurden in der NR gelöst.
Aus Gründen der Stabilität der Substanz wurde nicht reines Serotonin sondern Serotoninkreatininsulfat verwendet. Die Angaben der Serotoninkonzentrationen beziehen sich auf dieses Salz.

C. Serotoninantagonisten

Für diese Arbeit wurden Substanzen verwendet, denen an anderen Testpräparaten antagonistische Wirkungen gegenüber dem Serotonin zugeschrieben wurden. Ein Überblick über allgemeine pharmakologische Aspekte solcher Substanzen wurde vor 13 Jahren von Gaddum (1954) gegeben, gefolgt von einer zweiten Arbeit des Autors (1957). Nach weiteren Studien wurde dann die erste umfassende Sammlung von Daten und Literatur, chemischer Klassifikation der Antagonisten sowie einer detaillierten Beschreibung ihrer pharmakologischen Wirkungen auf isolierte Organe veröffentlicht (Jacob, 1960). Es folgten weitere Überblicke von Gyermek (61, 62, 65), in denen systematisch Testmethoden, Klassen von Verbindungen mit quantitativen Aktivitätsgraden sowie auch klinische Gesichtspunkte dargestellt wurden.

In diesen Arbeiten wird deutlich, daß die Klassen von Agentien, die bisher als Antagonisten dieser oder jener pharmakologischen Wirkung des Serotonins bekannt sind, völlig verschiedene chemische Strukturen besitzen. Im Gegensatz hierzu besitzen die Verbindungen, die die peripheren Wirkungen

einiger anderer biogener Amine wie auch des Acetylcholins (Ach) blockieren, definierte, diesen Aminen eigene Molekülmerkmale, wie z.B. auch einige strukturelle Charakteristika von Ach blockierenden Molekülen einer spezifischen Hemmung an bestimmten cholinergen Rezeptoren (praeganglionären, postganglionären, parasympathischen oder neuromuskulären) zugeordnet werden. Auch die große Mehrzahl wirksamer Antihistamine weisen ein einheitliches strukturelles Merkmal auf, ein substituiertes Äthylendiamin. Serotoninantagonisten lassen sich nun in vielen verschiedenen Klassen organischer Verbindungen nachweisen, so daß wir uns bemühten, von jeder dieser Klassen zumindest einen Vertreter anzuwenden.

Pharmakologischer Antagonismus wird auch in dieser Arbeit mehr oder weniger im klassischen Sinne betrachtet als ein Phänomen, das aus einer Interferenz zwischen zwei Agentien resultiert, ausgeübt auf ein spezifisches biologisches Substrat, welches gewöhnlich Rezeptor genannt wird. Bei der Annahme dieser sogenannten Agens-Rezeptorkomplextheorie als der Basis des pharmakologischen Antagonismusses muß einiges vorausgesetzt werden, ohne daß dessen Richtigkeit bisher bewiesen wäre. So muß man annehmen, daß der Antagonist

1. nicht direkt mit dem Agonisten reagiert
2. reversibel oder irreversibel auf den Rezeptor wirkt
3. sich nicht in Bildung oder Stoffwechsel des Agonisten einmischt
4. nur in die biologische Reaktion eingreift, die durch den Agonisten hervorgerufen wurde
5. die Bedingung 4. erfüllt, indem er den Agonisten ersetzt auf einer bestimmten Stufe dieser biologischen Reaktion, die in Beziehung zum Effekt steht (Gyermek 1965).

Die spezifische Natur des Antagonisten basiert auf der Annahme, daß er ähnliche oder stärkere Affinität gegenüber einem bestimmten Rezeptor einer biochemischen Reaktion besitzt als der Agonist, jedoch umgekehrt wie im Falle des Agonisten erfolgt

bei der Reaktion des Antagonisten mit dem Rezeptor keine pharmakologische Antwort (ein Mangel an "intrinsic activity" des Antagonisten). Der Antagonist kann aber auch die Charakteristika einer "intrinsic activity" zeigen, die durch hemmende Eigenschaften maskiert ist. In diesem Falle wird die Wirkungsweise wesentlich komplexer.

Eine schon früher angewandte Einteilung der Antagonisten (Gyermek, 1965) wurde modifiziert auch für diese Arbeit übernommen.
Es wurden untersucht:

1. Secale Alkaloide
2. Indolderivate
3. Graminderivate
4. Tryptaminderivate
5. Carbolinderivate
6. Antihistamine
7. Phenothiazine
8. Dibenzothiazepine
9. Iminodibenzyl- u. Iminostilbenderivate
10. Antisympathotonika
11. Atropinartige Substanzen
12. Lokalanaesthetika
13. Morphiumderivate
14. Sympathikomimetika
15. Verschiedene Verbindungen
16. Serotoninmetaboliten
17. Strukturanaloge des Serotonins
18. Substanzen mit antagonistischen Eigenschaften
19. Spezifität der Serotoninantagonisten

D. Ergebnisse

Serotoninwirkung an der Froschlunge:
Über die Wirkung des 5-Hydroxytryptamin auf die glatte Muskulatur der Froschlunge ist an anderer Stelle bereits eingehend berichtet worden (Brecht, K. u. Jeschke, D. 1962), so daß hier nur noch einmal die für diese Arbeit interessierenden Fakten Erwähnung finden:

1. 5-HT verursacht eine Erschlaffung der glatten Lungenmuskulatur.
2. Im Bereich der in dieser Arbeit angewandten Konzentrationen des 5-HT ist die Amplitude der Erschlaffung dem Logarithmus der Konzentration weitgehend proportional.
3. 5-HT zeigt an der glatten Muskulatur der Froschlunge keine Tachyphylaxie, sondern oft eine bei mehrfacher Gabe noch verstärkte Wirksamkeit.

Wie schon erwähnt, erfolgte die Erprobung der Testsubstanzen in einer Konzentration von 10^{-4} g/ml. Die folgenden Agentien blieben alle ohne Einfluß auf die Erschlaffung der Froschlunge durch Serotonin. Pharmaka, denen eine antagonistische Wirkung nachgewiesen werden konnte, werden in einem eigenen Kapitel behandelt. Die Zahlen in Klammern beziehen sich auf die am Ende der Arbeit angegebenen Autoren, die diese Substanzen an anderen Präparaten bereits auf ihre antagonistische Wirkung gegenüber dem Serotonin geprüft haben.

1. Secale Alkaloide

I. Ergotaminderivate

A) Ergotamin (18, 29, 40, 71)
B) Dihydroergotamin (18, 29, 32, 40, 71, 76)
C) Ergometrin (Ergonovin) (18, 40, 43)
D) Dihydroergometrin (18)
E) Methylergometrin (18)

II. Lysergsäurederivate

A) 2-Bromo-Lysergsäurediäthylamid (BOL 148) (2, 17, 19, 29, 91, 102)
B) Lysergsäurediäthylamid (LSD) (1, 2, 40, 41, 45, 49, 71, 76, 91, 96, 106, 108)
C) 1-Methyl-d-Lysergsäurebutanolamid (UML 491) (18, 29, 49)

2. Indolderivate

A) Indol (41, 80)
B) 5-Fluorindol (80)
C) 3-ß (Isoprop ylamino)äthylindol
D) 1-Methylindol (Skatol) (41)
E) 2-Methylindol (80)
F) Methylmedmain (1,2 Dimethyl-3-äthyl-5-dimethylaminoindol) (33, 88)

3. Graminderivate

A) Gramin (32, 33, 40, 41, 42, 80)
B) 5-Fluorgramin (80)

4. Tryptaminderivate

A) 1- (p-Methoxybenzyl) -2-methyl-5-hydroxytryptamin (Hydroxyindasol) (47, 92)
B) Tryptamin s.S.16
C) Melatonin s.S.18
D) Bufotenin s.S.14
E) BAB s.S.18
F) BAS s.S.19
G) BAS-phenol s.S.21

5. Carbolinderivate

A) Harmalin (26, 32, 52, 70)
B) Harman (32, 87)
C) Harmin (32, 52, 68, 70, 110)
D) Harmol (32)

6. Antihistaminika

A) Antistin (N-Benzyl-N-Phenylaminomethyl-2-inidazolin HCL)
B) Bayer 1219 (85)
C) Pyrilamin (2- (2'-Dimethylaminoäthyl) (p-methoxybenzyl)-amino) pyridin (29, 40, 48, 55)
D) Tripelinamin (N,N-Dimethyl-N'-(2'-pyridyl)-N'-(p-methoxy-benzyl) äthylendiamin) (29, 30, 71, 81, 85)
E) Soventol^{R} (N-Phenyl-N-benzyl-4-amino-1-methyl-piperidin) (85)
F) Thenalidin (1-Methyl-4-(N-phenyl-N-(2'-thenyl)amino) piperidin) (75)

7. Phenothiazine u. Cyproheptadin

A) Cyproheptadin (Periactin) (75, 92)
B) P-725 (Taxilan^{R}) (31)
C) Chlorpromazin (Megaphen^{R}) s.S.30
D) Promethazin (Atosil^{R}) s.S. 29

8. Dibenzothiazepine
   s.S. 25

9. Iminodibenzyl- u. Iminostilbenderivate

   A) Monochlorimipramin (Anafranil^{R}) (22)
   B) Opipramol (Insidon^{R}) (22)
   C) Desmethylimipramin (Pertofran^{R}) s.S.33
   D) Imipramin (Tofranil^{R}) s.S.33

10. Sympatholytika

   A) N-N-Dibenzyl-2-chloräthylamin HCL (Dibenamin^{R}) (26, 32, 36, 40, 41, 71, 76)
   B) 1-Isopropylamino-3-(1'-naphtyl-oxy)-progan-2-ol (Dociton^{R})
   C) Kö 535
   D) 1-Naphtyl-2-isopropyl-aminoäthanol (Alderlin^{R})
   E) Phenoxybenzamin (Dibenzylin^{R}) (17, 27, 45, 102)
   F) Phentolamin (Regitin^{R}) (41, 84)
   G) Reserpin (Serpasil^{R}) (4, 21, 25, 71, 75, 105)

11. Parasympatholytika

   A) Atropin (4, 15, 35, 40, 41, 57, 71, 81, 105)
   B) Oxyphenonium (Antrenyl^{R}) (57)
   C) Scopolamin

12. Lokalanästhetika

   A) Dibucain (63, 71, 90)
   B) Lidocain (63)
   C) Procain (20, 34, 45, 53, 63, 71, 75, 90)

13. Morphinderivate

   A) Morphin (27, 45, 53, 95, 96)
   B) Dihydrocodein (Dicodid^{R})
   C) Methadon (Polamidon^{R}) (27)
   D) Pethidin (Dolantin^{R})

14. Sympathikomimetika

A) Amphetamin (63)
B) Dopamin
C) Ephedrin (63)
D) Desoxyephedrin (63)

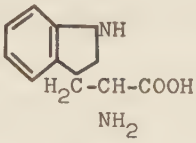
15. Weitere Verbindungen

A) Acetylcholin
Acetylcholin wirkt an der Froschlunge kontrahierend, jedoch mit jahreszeitlichen Unterschieden, intensiver im Winter als im Sommer (24, 28, 65). Durch diese kontrahierende Wirkung läßt sich die durch 5-HT erzeugte Erschlaffung überdecken. Ein Antagonismus im Sinne der auf S. 7 gegebenen Difinition ist hier aber nicht vorhanden, denn ACh wirkt offenbar über ein anderes Rezeptorsystem, da seine Wirkung durch Atropin gehemmt werden kann (15).
Angewandte Konzentrationen = AK: 10^{-4} u. 10^{-5} g/ml.
Die jetzigen Versuche wurden im Sommer vorgenommen, wobei sich nur eine geringgradige Kontraktion der Lungen auf ACh-Gaben einstellte, die die 5-HT-Erschlaffung in keiner Weise beeinflußte.

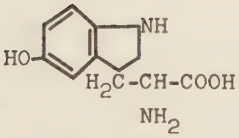
B) Acetylsalizylsäure (94)
C) DMPP (1,1 Dimethyl-4-phenylpiperaziniumjodid)
Starke Erschlaffung an der Froschlunge, jedoch scheint die Wirkung nicht mit dem Serotoninmechanismus gekoppelt, denn nach Applikation von 5-HT erfolgt zusätzlich noch eine der Serotoninkonzentrationen entsprechende Erschlaffung (17).
D) Gammaaminobuttersäure (56)
E) Heptacyclen (Knoll KR 499 A1)
F) Hexamethoniumbromid (59)
G) Iproniacid (Marsilid^{R}) (112)
H) Isoptin (Vasolan^{R})
I) Tetramethylammoniumbromid
K) Tyramin
Leichte Erschlaffung der Froschlunge, aber keine 5-HT-Hemmung (71).

16. Serotoninmetaboliten

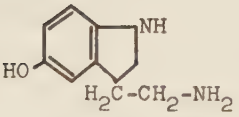
Serotonin entsteht in den Zellen des Organismus aus der Aminosäure Tryptophan durch Hydroxylierung und anschließende Decarboxylierung (101):



Tryptophan



5-Hydroxytryptophan



Serotonin

Die für den Serotonineffekt an der Froschlunge verantwortliche chemische Strukturkonstellation liegt entweder bereits in der Ausgangsaminosäure Tryptophan vor oder wird im Verlauf der Serotoninbiosynthese in das Molekül eingebaut. Zur Überprüfung dieser Frage wurden die oben genannten Agentien als mögliche Imitatoren der 5-HT-Wirkung angewandt. Auch ein Antagonismus erschien möglich im Sinne einer Affinität dieser Substanzen zu den Serotoninrezeptoren, ohne jedoch, auf Grund des Fehlens der entsprechenden chemischen Gruppen, den Effekt auslösen zu können.

A) Tryptophan
Die Aminosäure Tryptophan zeigte an der Froschlunge weder die erschlaffende Wirkung des 5-HT noch konnte sie den Serotonineffekt hemmen.

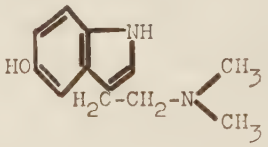
B) 5-Hydroxytryptophan
Dies galt auch für das 5-Hydroxytryptophan.
Die Carboxylgruppe bei den Aminosäuren Tryptophan und 5-Hydroxytryptophan verhindert offenbar deren Rezeptor-

affinität. Erst die Decarboxylierung führt, wie auch z.B. beim Histidin, zum wirksamen biogenen Amin.
Der Serotoninabbau erfolgt durch Desaminierung und Oxydation zur

C) 5-Hydroxyindolessigsäure
Auch hier zeigte sich, ganz im Sinne des oben Erwähnten, keine Wirkung.

17. Strukturanaloge des Serotonins

A) Bufotonin (41)



5-Hydroxy-N',N'-dimethyl-tryptamin

Bufotonin zeigt nach Applikation an Wirbeltieren, speziell auch am Menschen, starke halluzinogene Wirkungen, die auf einen Serotoninantagonismus zurückgeführt werden. An der Froschlunge zeigte Bufotonin serotoninähnliche Wirkungen, wie sie auf S. 8 beschrieben sind, nur vergleichsweise geringer; auch lag die stärkste Wirksamkeit im Bereich einer Konzentration von 5×10^{-5} - 10^{-5}. Bei Erhöhung oder Erniedrigung der Konzentration verminderte sie sich wieder. Außerdem war die Geschwindigkeit der erschlaffenden Wirkung wesentlich geringer als beim 5-HT. Offenbar wirkten sich hierbei die Methylgruppen störend aus. Eine Wirkung über Serotoninrezeptoren ist wahrscheinlich, denn zu einer bestimmten durch Bufotonin hervorgerufenen Erschlaffungsamplitude addiert sich bei zusätzlicher Serotoninapplikation immer nur der Erschlaffungsanteil, der zu dem Niveau führt, das auch ohne Bufotonin durch diese 5-HT-Konzentration erzeugt wurde. Ist dieses Niveau bereits erreicht oder sogar überschritten, tritt nach zusätzlicher 5-HT-Gabe keine weitere Erschlaffung ein.

Ergebnisse an der Froschlunge:

Bei allen Versuchen über Dosis-Wirkungsbeziehungen erfolgte die Serotonin-Applikation jeweils nach 2 Std.
In den Schemata wurden in der Waagerechten oben die entsprechenden Serotonin-Konzentrationen eingetragen, in der Senkrechten links die Konzentrationen der Antagonisten. Die in den Fächern angegebenen Werte zeigen die bei diesen Antagonisten-Konzentrationen erfolgte Hemmung in Prozent der Ausgangserschlaffung. Zeigte der Antagonist bereits selbst eine Erschlaffung, wurde diese in der Tabelle in Beziehung zu der Serotonin-Konzentration angegeben, die eine gleiche Erschlaffungsamplitude erzeugte. Die Werte wurden im Schema in der Senkrechten rechts eingetragen.

1. Zeitverlauf der Hemmung:

AK = Angewandte Konzentration

AK: 10^{-4} Erschlaffung entsprechend einer 5-HT-Konzentration von 10^{-7} (Erschlaffung = 10^{-7} 5-HT)

Zusätzliche Applikation von 5-HT in einer Konzentration von 10^{-6} nach 30 min (5-HT nach 30 min): bereits keine Wirkung mehr, 100 % Hemmung in Bezug auf die Erschlaffung bei Serotoningabe in einer Konzentration von 10^{-6}
Umschaltung auf NR ohne Antagonist = NR :
5-HT-Erschlaffung: nach 30 min voll reversibel

AK: 10^{-5} Erschlaffung = 5 x 10^{-7} 5-HT

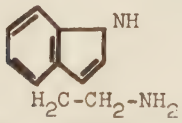
5-HT (10^{-6}) nach 30 min: 25 % Hemmung
" 70 min: 80 % Hemmung
" 120 min: 80 % Hemmung
" 170 min: 80 % Hemmung

NR + 10^{-6} 5-HT: nach 40 min voll reversibel

2. Dosis-Wirkungsbeziehung:

Antagonisten-Konzentrationen	Serotonin-Konzentrationen			Erschlaffung
	10^{-7}	5×10^{-7}	10^{-6}	
10^{-6}	100 %	80 %	50 %	= 10^{-7} 5-HT
5×10^{-6}	100 %	100 %	100 %	= 10^{-6} 5-HT
10^{-5}	100 %	100 %	100 %	= 5×10^{-6} 5-HT
5×10^{-5}	100 %	100 %	100 %	= 10^{-5} 5-HT
10^{-4}	100 %	100 %	100 %	= 10^{-6} 5-HT

B) Tryptamin (2, 37, 41, 44, 102)



Wie schon auf S. 15 festgestellt wurde, scheint die Decarboxylierung der Aminosäure 5-Hydroxytryptophan unerläßlich, damit an der Froschlunge eine Erschlaffung ausgelöst werden kann. Auch die Substitution in 5-Stellung am Indolring scheint für die volle Wirksamkeit des Moleküls wichtig. Tryptamin zeigt ebenfalls serotoninähnliche Effekte, jedoch in wesentlich geringerem Maße als Bufotonin. Also bringt das Fehlen der OH-Gruppe in 5-Stellung noch ausgeprägtere Unwirksamkeit als die Substitution durch Methylgruppen an der Aminogruppe. Wenn allerdings auch die Fähigkeit zur Auslösung des Erschlaffungseffektes nur gering ist, so zeigt Tryptamin doch in hohen Konzentrationen eine gewisse Rezeptoraffinität, welche die bei zusätzlicher Applikation vorhandene Serotoninwirksamkeit vermindert, in der Art wie eben beim Bufotonin dargestellt. Allgemein kann also auch hier gesagt werden, daß ein Hemmungsmechanismus nur dann vorliegt, wenn die Tryptaminkonzentration ausreichend ist, schon vor der 5-HT-Applikation eine Erschlaffung zu erzeugen.

Ergebnisse an der Froschlunge:

1. Zeitverlauf der Hemmung:

AK: 10^{-4} Erschlaffung = 5 x 10^{-7} 5-HT, aber erst im Verlauf von 2 Std.

+ 5-HT (10^{-6}) nach 30 min: keine Hemmung
+ 5-HT " 70 min: 30% Hemmung
+ 5-HT " 120 min: 60% Hemmung
+ 5-HT " 160 min: 70% Hemmung
+ 5-HT " 200 min: 70% Hemmung

NR + 10^{-6} 5-HT: nach 80 min voll reversibel

AK: 10^{-5} Erschlaffung = 5 x 10^{-8} 5-HT nach etwa 80 min

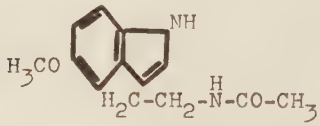
+ 5-HT (10^{-6}) nach 30 min: keine Hemmung
+ 5-HT " 70 min: 5% Hemmung
+ 5-HT " 120 min: 10% Hemmung
+ 5-HT " 170 min: 15% Hemmung
+ 5-HT " 210 min: 15% Hemmung

NR + 10^{-6} 5-HT bereits nach 40 min voll reversibel

2. Dosis-Wirkungsbeziehung:

Antagonisten-Konzentrationen	Serotonin-Konzentrationen			Erschlaffung
	10^{-7}	5 x 10^{-7}	10^{-6}	
5 x 10^{-5}	20%	10%	-	= 10^{-7} 5-HT
10^{-4}	90%	80%	50%	= 5 x 10^{-7} 5-HT

C) Melatonin (86)

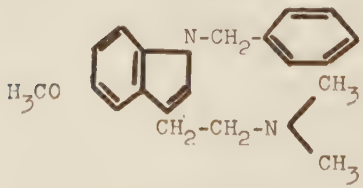


Entgegen früheren Beobachtungen löste Melatonin in dieser Versuchsreihe an der Froschlunge auch in hohen Dosen nur eine ganz geringe Erschlaffung aus, eine Beeinflussung der 5-HT-Wirkung trat hingegen in keinem Konzentrationsbereich auf. Wegen der ausgesprochen geringen Wirksamkeit des Melatonin besteht wohl auch kein Anlaß, diese Substanz in die Reihe möglicher Überträgersubstanzen in der Froschlunge aufzunehmen.

18. Substanzen mit serotoninantagonistischen Eigenschaften an der Froschlunge

Der größeren Übersicht halber wurden in diesem Kapitel unabhängig von ihrer chemischen Klassifizierung all die Substanzen zusammengefaßt, bei denen ein Serotoninantagonismus nachgewiesen werden konnte. Auch für das Froschlungenpräparat gilt wie schon auf S. 6 angedeutet, daß strukturell unterschiedlich oder völlig andersartige Verbindungen gleichartige antagonistische Wirkungen aufweisen.

I. BAB (1-Benzyl- 2,5-dimethylbufotenin), (89, 93)



Ergebnisse an der Froschlunge:

1. Zeitverlauf der Hemmung:

AK: 10^{-4}

+ 5-HT (10^{-6}) nach 30 min: 50 % Hemmung
+ 5-HT " 65 min: 50 % Hemmung
+ 5-HT " 110 min: 50 % Hemmung

NR + 5-HT (10^{-6}) nach 20 min voll reversibel

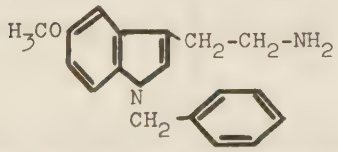
AK: 10^{-5}

+ 5-HT (10^{-6}) nach 30 min: 10 % Hemmung
+ 5-HT " 70 min: 15 % Hemmung
+ 5-HT " 120 min: 15 % Hemmung

2. Dosis-Wirkungsbeziehung:

Antagonisten-Konzentrationen	Serotonin-Konzentrationen			Erschlaffung
	10^{-7}	5×10^{-7}	10^{-6}	
5×10^{-6}	-	-	-	-
10^{-5}	5 %	5 %	5 %	-
5×10^{-5}	40 %	30 %	40 %	-

II. BAS (1-Benzyl, 2-methyl, 5-methoxytryptamin),
(54, 62, 72, 76, 93, 107, 111)



BAS, das Benzylanaloge des Serotonins, zeigt milde blutdrucksenkende Effekte bei essentiellen Hypertensionen (107). Auch eine gewisse Bradycardie kann beobachtet werden.

An der Meerschweinchenlunge wirkt BAS als Serotoninantagonist (93) wie auch am Kaninchenherzen (62). Die auf Injektion in die Terminalarterie des Colon durch Serotonin erzeugte spasmogene Wirkung wird ebenfalls durch BAS gehemmt (62). I.v. appliziert, produziert Serotonin beim Menschen ein kurz andauerndes Ansteigen in Tiefe und Frequenz der Respiration (72), welches ebenfalls durch BAS geblockt wird. Aufgrund dieser vielfältigen Wirkung des BAS kam es auch zur Anwendung in dieser Versuchsreihe.

Ergebnisse an der Froschlunge:

1. Zeitverlauf der Hemmung:

AK: 10^{-4}

+ 5-HT (10^{-6}) nach 30 min: keine Hemmung
+ 5-HT " 75 min: 30 % Hemmung
+ 5-HT " 120 min: 55 % Hemmung
+ 5-HT " 180 min: 55 % Hemmung

NR + 5-HT (10^{-6}) nach 30 min nur noch 15 % Hemmung
nach 75 min keine Hemmung mehr, voll reversibel

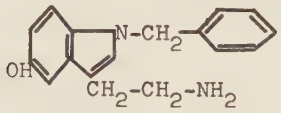
AK: 10^{-5}

Nach 30, 70, 120, 175 min. keine Hemmung.

2. Dosis-Wirkungsbeziehung:

Antagonisten-Konzentrationen	Serotonin-Konzentrationen			Erschlaffung
	10^{-7}	5×10^{-7}	10^{-6}	
5×10^{-6}	20 %	-	-	-
10^{-5}	40 %	45 %	40 %	-
5×10^{-5}	90 %	70 %	60 %	-
10^{-4}	90 %	80 %	80 %	-

III. BAS-phenol (1-Benzyl,-2-methyl,-5-hydroxytryptamin), (110)



An anästhesierten Hunden konnte nachgewiesen werden, daß die Antwort auf die Serotoninapplikation ausblieb, wenn die Tiere vorher mit BAS-phenol behandelt worden waren, auf Tryptaminapplikation hingegen erfolgte eine Antwort (110).Man schloß daher auf spezifische Serotoninrezeptoren in der glatten Gefäßmuskulatur, die selektiv durch BAS-phenol geblockt würden. Auch an anderer Stelle wurde die Hemmung des Serotonineffektes an der glatten Muskulatur der Aorta (Kaninchenaorta) durch BAS-phenol beobachtet (110). Allerdings stellte sich hierbei heraus, daß diese Substanz in hohen Dosen (über 55 mg/l) selbst eine starke Kontraktion hervorruft, also einen serotoninartigen Effekt besitzt.

Ergebnisse an der Froschlunge:

1. Zeitverlauf der Hemmung:

AK: 10^{-4} Starke Kontraktion des Präparates

+ 5-HT (10^{-6}) nach 30 min: 10 % Hemmung
+ 5-HT " 70 min: 40 % Hemmung
+ 5-HT " 120 min: 50 % Hemmung
+ 5-HT " 180 min: 50 % Hemmung

NR + 5-HT (10^{-6}) nach 45 min voll reversibel

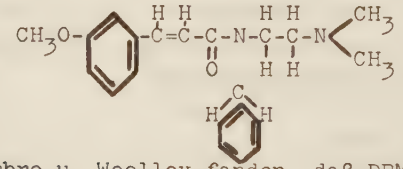
AK: 10^{-5}

5-HT 200 min lang gegeben, keine Hemmung nach 30, 70, 110, 140 u. 200 min.

2. Dosis-Wirkungsbeziehung:

Antagonisten-Konzentrationen	Serotonin-Konzentrationen			Erschlaffung
	10^{-7}	5×10^{-7}	10^{-6}	
5×10^{-6}	-	-	-	-
10^{-5}	-	-	-	-
5×10^{-5}	-	-	-	-
10^{-4}	30 %	10 %	-	-

IV. DBMC (N-ß-dimethylaminoäthyl-N-benzyl-m-methoxy-cinnamamid HCl), (30, 103, 111)



Dombro u. Woolley fanden, daß DBMC am Rattenuterus als Serotoninantagonist wesentlich aktiver ist, als das bis dahin als sehr wirksam geltende BAS. Die m-Methoxygruppe am Benzolring sowie die Benzylgruppe an dem Amid verstärken die Wirkung offenbar erheblich. Gegenüber ACH und Bradykinin wirken die Cinnamamide nicht. Jedoch fiel eine gewisse lokalanästhetische Wirkung der Dialkylaminoäthylcinnamamide auf (103).

DBMC ist insbesondere an dem Aortenstreifen des Kaninchens ein wirksamer Antagonist des Serotonins. Die Aktionen sind reversibel, außerdem kann die Hemmung durch DBMC durch größere Serotonindosen vermindert oder sogar aufgehoben werden. DBMC ist auch gegen Noradrenalin und Histamin wirksam, aber in wesentlich geringerem Maße. Interessant war auch die Beobachtung, daß der nach i.v. Injektion erfolgte hypotensive Effekt des Serotonins am Kaninchen durch DBMC nicht geblockt werden konnte. Danach könnten die Serotoninrezeptoren in diesem Präparat eingeteilt werden in DBMC-empfindliche und DBMC-unempfindliche (111).

Ergebnisse an der Froschlunge:

1. Zeitverlauf der Hemmung:

AK: 10^{-4}

Serotoninapplikation unter DBMC bewirkte zwar noch eine Erschlaffung, aber nach Auswaschen des Serotonins fiel die normale Tonuserhöhung aus, so daß kein zusätzliches Serotonin geprüft werden konnte. Die Erschlaffung war also nicht reversibel.

AK: 10^{-5}

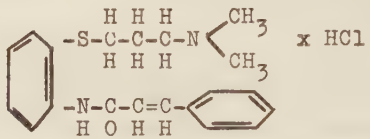
+ 5-HT (10^{-6}) nach 30 min: keine Hemmung
+ 5-HT " 70 min: keine Hemmung
+ 5-HT " 120 min: 10% Hemmung
+ 5-HT " 180 min: 10% Hemmung

2. Dosis-Wirkungsbeziehung:

Antagonisten-Konzentration.	Serotonin-Konzentrationen			Erschlaffung
	10^{-7}	5×10^{-7}	10^{-6}	
5×10^{-6}	40%	40%	40%	-
10^{-5}	65%	60%	60%	-
5×10^{-5}	80%	80%	65%	-
10^{-4}	100%	95%	70%	-

Bei den beiden letzten Konzentrationen zeigte sich wieder das Phänomen, daß auf eine Erschlaffung hin das Präparat sich nicht mehr kontrahierte. Außerdem wurde die Hemmung nach einiger Zeit teilweise aufgehoben, und es kam zu einer zusätzlichen Erschlaffung, obwohl das Serotonin viel früher gegeben worden war und eigentlich schon wieder hätte ausgeschwemmt sein müssen.

V. DPTC (2'(3-Dimethylaminopropylthio)cinnamanilid HCl), (30,66,103)



Auch für das DPTC gilt die ausgesprochen wirksame antagonistische Aktivität gegenüber dem Serotonin am isolierten Rattenuterus, wie auch die lokalanästhetische Wirkung sowie das Unvermögen dieser Substanz, die Wirkungen von ACH und Bradykinin zu blockieren.

Ergebnisse an der Froschlunge:

1. Zeitverlauf der Hemmung:

AK: 10^{-5} Keine Hemmung, auch nach 180 min. normale Erschlaffung

AK: 10^{-4}

+ 5-HT (10^{-6}) nach 30 min: keine Hemmung
+ 5-HT " 70 min: keine Hemmung
+ 5-HT " 110 min: 5% Hemmung
+ 5-HT " 170 min: 5% Hemmung

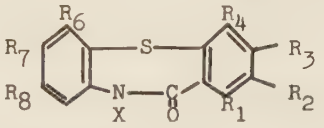
2. Dosis-Wirkungsbeziehung:

Antagonisten-Konzentrationen	Serotonin-Konzentrationen			Erschlaffung
	10^{-7}	5×10^{-7}	10^{-6}	
5×10^{-6}	-	-	-	-
10^{-5}	10%	5%	-	-
5×10^{-5}	20%	5%	-	-
10^{-4}	100%	20%	20%	-

VI.,VII. Dibenzothiazepinderivate 18'271-Ba und 20'068-Ba, (64)

Verschiedene Vertreter dieser Reihe zeichnen sich durch eine starke histamin- und serotoninantagonistische Aktivität aus. Diese läßt sich an verschiedenen glattmuskulären Organen (Darm, Uterus, Trachea) in vitro wie auch in vivo nachweisen. Daneben besitzen die Verbindungen auch interessante zentrale Wirkungen; u.a. vermögen sie die durch Mescalin erzeugte zentrale Erregung an der Maus zu dämpfen.

Allg. Formel
der Dibenzothiazepine



VI. 18'271-Ba

1. Zeitverlauf der Hemmung:

AK: 10^{-4} Starke Kontraktion des Präparates

+ 5-HT (10^{-6}) nach 30 min: 5 % Hemmung
+ 5-HT " 70 min: 100 % Hemmung
+ 5-HT " 120 min: 100 % Hemmung

AK: 10^{-5}

+ 5-HT (10^{-6}) nach 30 min: kaum Hemmung
+ 5-HT " 70 min: 70 % Hemmung
+ 5-HT " 120 min: 100 % Hemmung

NR + 5-HT (10^{-6}) nach 30 min voll reversibel

2. Dosis-Wirkungsbeziehung:

Antagonisten-Konzentrationen	Serotonin-Konzentrationen			Erschlaffung
	10^{-7}	5×10^{-7}	10^{-6}	
5×10^{-6}	10 %	10 %	-	-
10^{-5}	90 %	70 %	10 %	-
5×10^{-5}	100 %	90 %	10 %	-
10^{-4}	100 %	100 %	30 %	-

VII. 20'068-Ba

1. Zeitverlauf der Hemmung

AK: 10^{-4}

+ 5-HT (10^{-6}) nach 30 min: 40 % Hemmung
+ 5-HT " 70 min: 65 % Hemmung
+ 5-HT " 120 min: 65 % Hemmung

AK: 10^{-5}

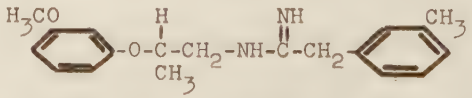
Nach 30, 70 u. 120 min. jeweils keine Hemmung

2. Dosis-Wirkungsbeziehung

Antagonisten-Konzentrationen	Serotonin-Konzentrationen			Erschlaffung
	10^{-7}	5×10^{-7}	10^{-6}	
5×10^{-6}	-	-	-	-
10^{-5}	-	-	-	-
5×10^{-5}	-	-	-	-
10^{-4}	50 %	50 %	50 %	-

Bei der Konzentration des Antagonisten von 5×10^{-6} g/ml trat keine Hemmung ein, sondern die Serotoninerschlaffung wurde in den Konzentrationen 5-HT 10^{-7}, 5×10^{-7} u. 10^{-6} um jeweils etwa 50 % verstärkt.

VIII. B.W.545C64 (Xylamidintosylat), (23)



Xylamidintosylat erwies sich an verschiedenen Präparaten als sehr wirksamer Serotoninantagonist. So wurde der durch Serotonin am isolierten Rattenuterus bewirkte Spasmus gehemmt; diese Hemmung blieb auch nach Auswaschen bestehen. Auch der Spasmus des isolierten Meerschweinchenileum, durch ACH, Histamin oder Serotonin ausgelöst, wurde durch Xylamidintosylat vermindert.

Die durch i.v. Injektion von 5-HT nach der Methode von Konzett u. Rössler an anästhesierten Meerschweinchen bewirkte Bronchokonstriktion wurde durch BW 545064 ebenso aufgehoben wie lokale Oedeme an Rattenpfötchen, die durch subcutane 5-HT Injektion entstanden waren. In vielem erinnert die Wirkung an Methysergid, wenn auch etwa 10-fach höhere Dosen verabfolgt werden müssen. Gab man die Verbindung jedoch 5 Stunden vor der i.v. Serotonininjektion, war Xylamidintosylat fast doppelt so wirksam wie Methysergid.

Ergebnisse an der Froschlunge

1. Zeitverlauf der Hemmung:

AK: 10^{-4}

+ 5-HT (10^{-6}) nach 30 min: keine Hemmung
+ 5-HT " 75 min: 20% Hemmung
+ 5-HT " 120 min: 30% Hemmung
+ 5-HT " 180 min: 30% Hemmung

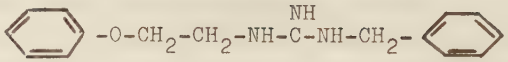
NR + 5-HT (10^{-6}) auch nach 90 min. nicht reversibel
AK: 10^{-5}
Nach 20, 70 und 120 min. jeweils keine Hemmung

2. Dosis-Wirkungsbeziehung:

Bei einer Konzentration des B.W. 545064 von 5×10^{-6} und 10^{-5} erfolgte eine starke Kontraktion des Präparates, die aber auf das alte Niveau zurückgeht.

Antagonisten-Konzentrationen	Serotonin-Konzentrationen			Erschlaffung
	10^{-7}	5×10^{-7}	10^{-6}	
5×10^{-6}	-	-	-	-
10^{-5}	-	-	-	-
5×10^{-5}	10%	-	-	-
10^{-4}	100%	70%	50%	-

IX. B.W. 712060, (23)



Ganz ähnlich wie Xylamidintosylat an den genannten Präparaten wirkt auch B.W. 712060, nur sind höhere Konzentrationen erforderlich. Außerdem ließ die Substanz länger anhaltende Aktivität vermissen.

Ergebnisse an der Froschlunge

1. Zeitverlauf der Hemmung:

AK: 10^{-4}

+ 5-HT (10^{-6}) nach 20 min: 80% Hemmung
+ 5-HT " 70 min: 90% Hemmung
+ 5-HT " 115 min: 90% Hemmung

NR + 5-HT (10^{-6}) erst nach 2 Std. reversibel

AK: 10^{-5}

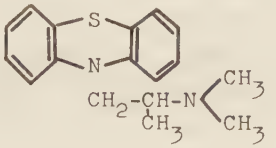
+ 5-HT (10^{-6}) nach 20 min: 20% Hemmung
+ 5-HT " 70 min: 30% Hemmung
+ 5-HT " 120 min: 30% Hemmung

2. Dosis-Wirkungsbeziehung:

Bei einer Konzentration des Antagonisten von 5×10^{-6} erfolgte eine geringe Kontraktion des Präparates.

Antagonisten-Konzentrationen	Serotonin-Konzentrationen			Erschlaffung
	10^{-7}	5×10^{-7}	10^{-6}	
5×10^{-6}	-	-	-	-
10^{-5}	30%	-	-	-
5×10^{-5}	90%	70%	50%	-
10^{-4}	100%	90%	70%	-

X. Promethazin (Atosil^R), (22, 31, 83)



Das Phenothiazinderivat Promethazin ist als Breitbandneuroleptikum mit Einflüssen auf die tectoretikulären Halbzentren bekannt. Es beeinflußt vorwiegend erregte, halluzinante und wahnhaft produzierte Krankheitszustände. Auch eine gewisse antihistaminische Wirkung ließ sich nachweisen. Vor allem besitzen die Phenothiazine auch eine starke adrenolytische Wirkung und insbesondere das Promethazin auch einen anticholinergischen Effekt. Das Absinken des Blutdrucks sowie der sedative Effekt werden durch ein allgemein vermindertes Angebot von aromatischen Monoaminen an den entsprechenden Rezeptoren erklärt. Dies soll im Falle der Phenothiazine durch eine verminderte Empfindlichkeit der entsprechenden Rezeptoren bewirkt werden. Sie würden also die Schwelle der Wirksamkeit der Monoamine heraufsetzen(22,31). Der Constrictor pupillae des Pferdes ist sehr empfindlich gegen 5-HT. Diese Wirkung wird durch Promethazin teilweise gehemmt. - Auch die Kontraktionswirkung des 5-HT an den Lungengefäßen wird durch Promethazin vermindert(83).

Ergebnisse an der Froschlunge:

1. Zeitverlauf der Hemmung:

AK: 10^{-4}

+ 5-HT (10^{-6})	nach 30 min:	keine Hemmung
+ 5-HT	" 70 min:	40 % Hemmung
+ 5-HT	" 120 min:	70 % Hemmung
+ 5-HT	" 180 min:	70 % Hemmung

Bei allen Serotoninapplikationen konnte das lang anhaltende Persistieren der Erschlaffung beobachtet werden.

NR + 5-HT (10^{-6}) auch nach 130 min. kaum reversibel.

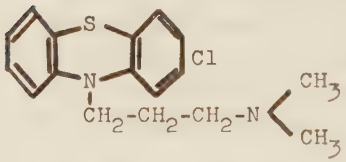
AK: 10^{-5}

+ 5-HT (10^{-6})	nach 30 min:	keine Hemmung	
+ 5-HT	" 70 min:	60 % Hemmung	Die Erschlaffung geht überhaupt nicht zurück
+ 5-HT	" 120 min:	60 % Hemmung	

2. Dosis-Wirkungsbeziehung:

Antagonisten-Konzentrationen	Serotonin-Konzentrationen			Erschlaffung
	10^{-7}	5×10^{-7}	10^{-6}	
5×10^{-6}	-	50 %	75 %	-
10^{-5}	-	50 %	80 %	-
5×10^{-5}	-	40 %	80 %	-
10^{-4}	-	40 %	60 %	-

XI. Chlorpromazin (Megaphen^{R}), (22, 31, 83)



Für das Chlorpromazin gelten die gleichen Effekte wie für Promethazin (22). An Gastrocnemiuspräparaten von Katzen und Meerschweinchen konnte beobachtet werden, daß CPZ die Muskelkontraktion sowohl durch Blockierung der neuromuskulären Übertragung als auch durch direkte Muskelwirkung abschwächt (83). Es konnte auch gezeigt werden, daß CPZ das γ-Fasersystem selektiv lähmt, wodurch es unter den muskellähmenden Stoffen eine Sonderstellung einnimmt (31).

Ergebnisse an der Froschlunge:

1. Zeitverlauf der Hemmung:

AK: 10^{-4} Erschlaffung = 10^{-7} 5-HT

+ 5-HT (10^{-6}) nach 30 min: 50 % Hemmung
+ 5-HT " 70 min: 50 % Hemmung
+ 5-HT " 120 min: 50 % Hemmung

NR + 5-HT (10^{-6}) nach 130 min. nicht reversibel

AK: 10^{-5} Erschlaffung = 5 x 10^{-7} 5-HT

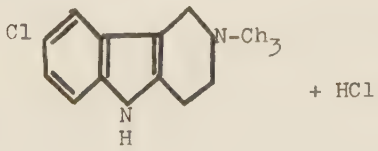
+ 5-HT (10^{-6}) nach 30 min: 10 % Hemmung
+ 5-HT " 70 min: 20 % Hemmung
+ 5-HT " 120 min: 30 % Hemmung

NR + 5-HT (10^{-6}) nach 90 min. gering reversibel

2. Dosis-Wirkungsbeziehung:

Antagonisten-Konzentrationen	Serotonin-Konzentrationen			Erschlaffung
	10^{-7}	5 x 10^{-7}	10^{-6}	
5 x 10^{-6}	-	-	-	= 10^{-7} 5-HT
10^{-5}	-	-	-	= 10^{-7} 5-HT
5 x 10^{-5}	5 %	-	-	-
10^{-4}	10 %	10 %	5 %	= 10^{-7} 5-HT

XII. Ro 3-0837 (8-Chloro-2-methyl-1,3,4,5-tetrahydro-2-pyrid-4,3,ß)indol)



+ HCl

Das Carbolinderivat Ro 3-0837 zeigt periphere Antiserotoninaktivität ohne zentrale Effekte. An anästhesierten Hunden wurde die durch Serotonin erzeugte Hypertension durch eine bestimmte Dosis des Präparates aufgehoben. Auch einem Asthma ähnelnde Spasmen, am Meerschweinchen durch 5-HT bewirkt, sowie Oedeme am Rattenpfötchen werden durch Ro 3-0837 vermindert. Isolierte Organe wie Uterus und Colon der Ratte als Testpräparate verwandt, werden auf die 5-HT-Kontraktion durch Ro 3-0837 im Sinne einer antagonistischen Erschlaffung beeinflußt, (Mitteilung Hoffmann - La Roche AG)

Ergebnisse an der Froschlunge:

1. Zeitverlauf der Hemmung:

AK: 10^{-4}

+ 5-HT (10^{-6}) nach 30 min: keine Hemmung
+ 5-HT " 75 min: 40% Hemmung
+ 5-HT " 120 min: 70% Hemmung
+ 5-HT " 170 min: 80% Hemmung
+ 5-HT " 210 min: 80% Hemmung

NR + 5-HT (10^{-6}) auch nach 170 min. nicht reversibel
AK: 10^{-5}

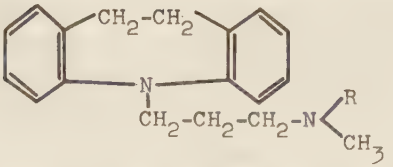
+ 5-HT (10^{-6}) ergab nach 30, 75 u. 120 min. keine Hemmung

2. Dosis-Wirkungsbeziehung:

Die Antagonistenkonzentrationen 5×10^{-6} u. 10^{-5} bewirkten eine geringe Förderung der Erschlaffung durch 5-HT.

Antagonisten-Konzentrationen	Serotonin-Konzentrationen			Erschlaffung
	10^{-7}	5×10^{-7}	10^{-6}	
5×10^{-6}	-	-	-	-
10^{-5}	-	-	-	-
5×10^{-5}	20%	25%	40%	-
10^{-4}	80%	60%	50%	-

XIII. Imipramin (Tofranil^{R}) u. Desmethylimipramin (Pertofran^{R}), (22,31)



Imipramin R = CH_3

Desmethylimipramin R = H

Diese beiden Substanzen wirkten gleich und können daher gemeinsam behandelt werden. Sie zeigen lokalanästhetische Wirkungen an der Kaninchencornea, insbesondere auch einen Serotoninantagonismus am Meerschweinchenileum (31.).

Interessant ist auch der zentralnervöse Effekt dieser sogenanntenThymoleptika. Sie haben zwar selbst keinen Einfluß auf den Stoffwechsel der Brenzcatechinamine, verstärken aber deren Wirkung durch Anreicherung am Rezeptor, indem sie ihre biologische Inaktivierung, die zum Teil durch Rücknahme in die Speicher erfolgt, verhindern. Daher kann die Wirkung exogen zugeführter Brenzcatechinamine unter der Therapie der Thymoleptika potenziert werden (22).

Ergebnisse an der Froschlunge:

1. Zeitverlauf der Hemmung:

AK: 10^{-4} Erschlaffung = 5 x 10^{-6} 5-HT

+ 5-HT (10^{-6}) nach 30 min: 50 % Hemmung
+ 5-HT " 70 min: 80 % Hemmung
+ 5-HT " 120 min: 80 % Hemmung

NR + 5-HT (10^{-6}) nach 30 u. 80 min. nicht reversibel

AK: 10^{-5} Erschlaffung = 5 x 10^{-7} 5-HT

+ 5-HT (10^{-6}) nach 30 min: keine Hemmung
+ 5-HT " 70 min: keine Hemmung
+ 5-HT " 120 min: 80 % Hemmung

Die Hemmung war jedoch nicht eindeutig, da das Präparat sich nach erfolgter 5-HT-Applikation kaum noch kontrahierte und daher zunehmend erschlaffte.

2. Dosis-Wirkungsbeziehung:

Antagonisten-Konzentrationen	Serotonin-Konzentrationen			Erschlaffung
	10^{-7}	5×10^{-7}	10^{-6}	
5×10^{-6}	-	-	-	-
10^{-5}	-	-	-	-
5×10^{-5}	50 %	50 %	50 %	-
10^{-4}	70 %	70 %	80 %	-

19. Spezifität der Serotoninantagonisten

Da auch Adrenalin an der Froschlunge und zwar in höheren Konzentrationen als Serotonin eine Erschlaffung bewirkt, wurde die Spezifität der gefundenen Antagonisten überprüft, indem ihre Wirksamkeit gegenüber dem Adrenalin erprobt wurde. Denn gemäß der Forderung auf S. 7 muß ein Antagonist direkt am Rezeptor für das entsprechende Pharmakon angreifen. Wird jedoch auch die Adrenalinwirkung gehemmt, erscheint ein Angriff des Stoffes auf ein Bindeglied zwischen Rezeptor und kontraktilem Apparat oder aber direkt auf den letzteren wahrscheinlicher. Eine solche Überprüfung ergab folgende Ergebnisse: Die Anwendung von Adrenalin und den gefundenen Antagonisten erfolgte in gleicher Weise wie in den entsprechenden Versuchen mit Serotonin. Die Adrenalinkonzentration betrug jeweils 2×10^{-6} g/ml.

Folgende Stoffe hemmten auch die Erschlaffung der Froschlunge durch Adrenalin:

1. BAS
2. BAS-phenol
3. Imipramin
4. Desmethylimipramin
5. 18'271-Ba
6. 20'068-Ba
7. Ro-3-0837

Diese Stoffe dürfen also nur bedingt Berücksichtigung finden, da sie keine spezifisch serotoninantagonistische Wirkung zeigen. Unbeeinflußt blieb die Erschlaffung der Froschlunge durch Adrenalin bei folgenden Agentien:

1. BAB
2. DBMC
3. DPTC
4. Promethazin
5. Chlorpromazin
6. 545c 64
7. 712c 60

Da die Substanzen BAB, DBMC, DPTC und 545c 64 eine nur relativ geringe, Promethazin und CPZ stärkere und vor allem 712c 60 ausgezeichnete serotoninantagonistische Eigenschaften besitzen, kann gesagt werden, daß im Rahmen dieser Arbeit und der hierbei angewandten Agentien an der Froschlunge das Guanidinderivat BW 712c 60 als wirksamster und dabei ausgesprochen spezifischer Serotoninantagonist angesehen werden muß. Das Präparat hemmte erfolgreich die durch Serotonin an der Froschlunge bewirkte Erschlaffung und zeigte dabei selbst an dem Organ praktisch keinen Einfluß.

E. Diskussion

Die Pharmakonwirkung kann in vielen Fällen durch die Wechselwirkung eines Moleküls mit spez. Molekülen des Organismus erklärt werden. Diese biologisch aktiven Stellen werden auch als spez. Rezeptoren bezeichnet. Die Wechselwirkungen zwischen Agens und Rezeptor haben Änderungen am Pharmakon oder im Organismus oder bei beiden zur Folge. Im 1. Fall würde das Pharmakon chemisch verändert und der Rezeptor stellt die aktive Stelle eines Enzymes dar. Im 2. Fall bewirkt die Substanz eine Kette von Reaktionen. Das Pharmakon X wird an den Rezeptor R zu einem Komplex XR gebunden und diese Bindung hat weitere Reaktionen zur Folge, deren endgültige Wirkung sich dann z.B. in einer Erschlaffung des Präparates, hier der Froschlunge, äußert.

Führt man dem isolierten Organ gleichzeitig 2 Substanzen A und B zu, die mit dem Rezeptor reagieren, entsteht um den Letzteren eine Konkurrenz. Ist nur der eine Pharmakon-rezeptorkomplex wirksam, so verdrängt z.B. das unwirksame Pharmakon B die Moleküle der wirksamen Substanz A von den Rezeptoren und hemmt so deren Wirkung. Die Substanz B mit dem unwirksamen Rezeptorkomplex wirkt wie ein Antagonist gegenüber dem wirksamen Agonisten A. Bei solch einem kompetitiven Antagonismus haben also beide Pharmaka eine Affinität zu den Rezeptoren, nur ist beim Agonisten die "intrinsic activity" gleich 100 %, beim Antagonisten gleich 0 %. Hat der Antagonist aber eine mittlere "intrinsic activity", so verhält er sich, allein gegeben, als Agonist mit schwächerer Wirkung, zusammen mit dem Agonisten aber als Antagonist. Solche Substanzen heißen partielle Agonisten. Als nicht kompetitiven Antagonismus bezeichnet man den Vorgang, daß das Pharmakon B mit einem Rezeptor R' zum Komplex BR' reagiert und dieser Komplex auf die Folgereaktion des Komplexes AR einwirkt. Im Rahmen der Rezeptorenhypothese ist zu erwarten, daß die Wirkung eines

Agens mit steigender Zahl von Pharmakon - Rezeptorkomplexen ansteigt. Sind alle Rezeptoren besetzt, müßte demnach die maximale Wirkung erreicht sein. Für eine Reihe von Reaktionen dürfte jedoch eine andere Hypothese zutreffender sein (Paton). Hiernach ist der Effekt proportional der Bildungsrate von Pharmakonrezeptorkomplexen.

Die chemische Strukturaufklärung der pharmakologischen Rezeptoren ist naturgemäß sehr schwierig, da sie an die Zellen gebunden sind und ihre Prüfung nur im intakten Zellverband erfolgen kann. Besser gelang die Aufklärung der aktiven Stellen von Enzymen, da sie isolierbare Systeme darstellen, die mit Hilfe der Eiweißchemie analytisch behandelt werden können.

In den Mittelpunkt des Interesses rückten vor allem die sogenannten α- und ß-Rezeptoren der Brenzkatechinamine. Wenn die insbesondere von Belleau in der letzten Zeit entwickelten Modellvorstellungen von der Natur der adrenergen Rezeptoren auch nicht alle Fragen befriedigend zu beantworten vermögen, so geben sie doch in manchen Fällen schon eine Basis für die rationelle Deutung der Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und Wirkung der sympathicomimetischen Amine (Holtz u. Palm, 1966).

Wirkungsort und Wirkungsweise von Serotonin

Es ist in vielen Arbeiten versucht worden, bestimmte Gewebebezirke zu charakterisieren, die spez. Empfindlichkeit gegenüber dem Serotonin zeigen. Obwohl eine Vielzahl von Methoden und Versuchen mit Strukturanalogen, Antagonisten und Inhibitoren der Serotonin inaktivierenden Enzyme durchgeführt wurden, ist es sehr schwierig,einheitliche Schlüsse über die exakte Natur der Serotoninrezeptoren zu ziehen.

Es scheint gerechtfertigt, die Existenz von Rezeptoren anzunehmen, die, im Vergleich zu anderen physiologisch

vorkommenden humoralen Stoffen, vornehmlich auf Serotonin reagieren. Studien, in denen die pharmakologische Wirksamkeit des Serotonins in vivo und in vitro mit Agentien wie Adrenalin, Noradrenalin, ACh, Histamin und einigen physiologisch aktiven Peptiden verglichen wurde, zeigten charakteristische Wirkungen des Serotonins, die sich von denen der erwähnten Verbindungen unterscheiden (Page 1954, 1958; Meier 1957; Brownlee und Johnson 1963). Die unterschiedlichen Aktionen dieser Substanzen aber lassen nur die mögliche Existenz pharmakologisch ausgezeichneter Rezeptorpositionen für das Serotonin vermuten. Auch die Frage, ob vielleicht das Serotonin nur ein aktivierendes System in Bezug auf die Empfindlichkeit bestimmter Rezeptoren für andere Transmittersubstanzen darstellt, ist noch ungelöst. Für die meisten der erwähnten Arbeiten wurden 2 Präparate verwendet: Rattenuterus und Meerschweinchen-ileum.

Am Ileum wurde zuerst gezeigt, daß 5-HT auf andere Rezeptoren wirkt, als die, die durch ACh, Histamin und Bradykinin stimuliert werden (Rocha, Silva et al. 1953). Systematische Versuche mit einer Anzahl von Antagonisten an verschiedenen Organen (Gaddum u. Hameed 1954) führten zu der Vermutung, daß auch in einem einfachen isolierten Organ wie etwa einem Stück Darm mehrere Rezeptoren vorhanden sind. Erfolgreich wurden im Meerschweinchenileum zwei Arten von Rezeptoren gefunden (Gaddum u. Picarelli 1957). Die Applikation verschiedener Antagonisten zeigte, daß einer dieser Rezeptoren ein nervöses Element darstellt, M-Rezeptor, stimuliert durch 5-HT und geblockt durch Morphin, Methadon, Atropin und Cocain. Der andere ist in den glatten Muskelzellen lokalisiert, D-Rezeptor. Dieser letztere, ebenfalls empfindlich gegen 5-HT, wird durch Dibenzylin und Ergotaminderivate blockiert. Während im Falle des D-Rezeptors eine mehr direkte Wirkung auf die contraktilen Elemente angenommen wird, scheint die Antwort

der M-Rezeptoren mehr in Zwischenstufen zu liegen unter Einschließung anderer Rezeptoren. Dies wurde durch Arbeiten in den letzten Jahren entdeckt:

Harry (1963) fand, daß die Darmringmuskulatur nach Hemmung der Cholinesterase in einem hohen Maße auf ACh und 5-HT reagiert. Die Resultate, die man an diesem Präparat erhielt, indem man verschiedene Blocker wie Procain, Morphin und Hemicholinium verwendete, zeigten, daß 5-HT auf die intramuralen Plexus im Sinne einer Freisetzung des ACh wirkt, was auch früher schon angenommen wurde (Moussatche u. Pereira 1957). Histamin und Nicotin bewirkten eine ähnliche Freisetzung von ACh, aber auch die Rezeptoren dieser letztgenannten Stimulantien sind im Nervengeflecht des Meerschweinchenileums verschieden.

Brownlee u. Johnson (1963) fanden ebenfalls, daß 5-HT auf spezifische Rezeptoren in den intramuralen parasympathischen Ganglien wirkt. Diese Rezeptoren sind nicht "nicotinartig" und unterscheiden sich auch von den muskulären D-Rezeptoren.

Day und Vane (1963) entdeckten, daß am Meerschweinchenileum 5-HT in dieselbe Kategorie stimulierender Pharmaka wie Nicotin und DMPP fällt, die dadurch wirken, daß sie cholinerge Nervenfasern erregen. Ihre Befunde mit Morphin und Phenoxybenzamin zeigten die Schwierigkeit einer exakten Trennung der M- und D-Rezeptoren im Meerschweinchenileum, weil wohl beide Rezeptoren zu den beobachteten Reaktionen beitragen. Es wurde ein Versuch gemacht, zu klären, in welchem Ausmaß diese verschiedenen Rezeptoren an der normalen Reaktion des Ileums beteiligt sind. Die Ergebnisse zeigten, daß die nervösen Rezeptoren in stärkerem Maße an dem Effekt beteiligt sind.

Es scheint also, daß in Organen wie dem Meerschweinchenileum, wo nervöse und glattmuskuläre Elemente vorkommen, die 5-HT-empfindlich sind, ein zündender Effekt auf ner-

vöse Rezeptoren notwendig ist, um dadurch an den muskulären Rezeptoren eine starke Erregung zu erzeugen (Gyermek 1965). Ähnliche Beobachtungen wurden an der Harnblase des Hundes gemacht, wo zwei Effekte des 5-HT unterschieden werden konnten: eine rasch ansteigende Kontraktion, die durch nervöse Rezeptoren hervorgerufen wurde und eine langsame Kontraktion als Resultat der Erregung der muskulären Rezeptoren. Die zweite Komponente war von der ersten abhängiger als umgekehrt (Gyermek 1962).

In den letzten Jahren konnte gezeigt werden, daß es sich bei den Serotoninrezeptoren am Rattenmagen um Lipide, insbesondere um Ganglioside handelt (Woolley u. Gommi 1965), welche durch Neuraminidasen selektiv zerstört werden können.

Wesemann u. Zilliken (1967) nehmen nun für den Rattenfundus folgendes Schema für die Rezeptorreaktion an: Eine Rezeptorvorstufe X wird durch Anlagerung einer N-Acetylneuraminsäure (NANA) zum eigentlichen Rezeptor (X-NANA). Die Bindung des 5-HT an das Gangliosid führt dann zum wirksamen Rezeptorkomplex X-NANA-5-HT, der die entsprechende Reaktion auslöst.

Die Tatsache, daß erstens Serotonin an der Froschlunge im Gegensatz zu den meisten untersuchten Präparaten erschlaffend wirkt und zweitens weder die M- noch die D-Rezeptorenblocker auf die Serotoninwirkung an der Froschlunge einen Einfluß ausüben, macht für dieses Organ ein besonderes Wirkungsschema notwendig. Spezifische Rezeptoren scheinen aber auf jeden Fall vorhanden zu sein, wie einige Versuche erwiesen haben (noch unveröffentlicht). Sicherlich kommen für die 5-HT-Wirkung keine α- und ß-Rezeptoren in Frage. Die entsprechenden Blocker haben auf die Serotoninwirkung keinen Einfluß, wenn sie in Dosen verabreicht werden, welche relativ hohe Catecholaminkonzentrationen längst hemmen. Auch Ganglienblocker vom kompeti-

tiven und depolarisierenden Typ beeinflussen die Wirkung nicht. Jedoch konnte mit Hilfe von Tetrodotoxin die Erschlaffung der Froschlunge durch 5-HT teilweise gehemmt werden, so daß hier möglicherweise ein neuraler Angriffspunkt des 5-HT in Erwägung zu ziehen ist, eventuell im Sinne einer Aktivierung ganglionärer inhibitorischer Neurone. Tetrodotoxin hat keinen Einfluß auf glatte Muskelzellen, läßt aber durch Verhinderung des Na-Einstromes neurale Aktionspotentiale verschwinden, (Toida u. Osa 1965; Gershon 1967) so daß Pharmaka hinsichtlich neuraler und nicht neuraler Effekte differenziert werden können. Da das Präparat auch nach Depolarisierung der Zellmembran der Froschlunge mit Hilfe von isotoner KCl-Lösung auf 5-HT-Gabe noch mit einer deutlichen Erschlaffung reagiert und die Hemmung durch Tetrodotoxin gering war, scheint an der Froschlunge hauptsächlich eine direkte Wirkung des 5-HT auf die glatte Muskulatur zu bestehen.

Serotonin konnte sowohl aus Muskelzellen wie auch aus Ganglien des Mytilus-Byssus-Retraktormuskels isoliert werden, wo es die Tätigkeit relaxierender Nerven imitiert (Twarog 1967). Zur Wirkungsweise des 5-HT wird in dieser Arbeit folgende Hypothese entwickelt:
Experimente weisen darauf hin, daß das Retractormuskelaktomyosin durch Zunahme der intrazellulären Ca^{++}-Konzentration aktiviert wird. 5-HT könnte nun am Rückbindungsmechanismus für Ca-Ionen angreifen, indem es denselben fördert. Auch die excitatorische Wirkung des 5-HT auf die Mytilusmembran ist ähnlich derjenigen, die bei einer Erniedrigung des intrazellulären Ca^{++}-Spiegels am Krabbenmuskel auftritt.

Diese Vorstellungen auf die Froschlunge übertragen, würde folgende Wirkungsschemen ergeben:
1. könnte 5-HT für die Rückbindung der Ca^{++} in entsprechende Granula in der Zelle verantwortlich sein,
2. wäre ein Transport der Ca^{++} von intrazellulär nach

extrazellulär zu diskutieren. Auf jeden Fall würde der entsprechende Serotoninrezeptorkomplex ein solches Carriersystem aktivieren und die Reaktionskette starten. Das Ende dieser Kette ist auf jeden Fall die Erschlaffung der glatten Muskulatur der Froschlunge, Beginn und Zwischenglieder sind noch unbekannt.

Der Angriff unspezifischer Serotoninantagonisten, also solcher Substanzen, die zum Beispiel auch die Erschlaffung durch Adrenalin hemmen, müßte dort erfolgen, wo die durch 5-HT und Adrenalin bewirkte Reaktionskette gleich ist, also etwa am Carriersystem oder auch direkt am kontraktilen Apparat. Natürlich könnten diese Substanzen auch an beiden Rezeptoren angreifen, was für eine gewisse Ähnlichkeit der Rezeptoren spräche, wie sie an Fasciola hepatica und der Katzenmilz beschrieben wurde (Mansour 1957, Innes 1962). Hier lassen sich die Wirkungen von Serotonin und Adrenalin nicht unterscheiden, wobei auch keine selektiven Blocker gefunden wurden.

Für die Wirkung des 5-HT an der glatten Muskulatur der Froschlunge ist offenbar, wie schon auf den Seiten 15 - 20 ausgeführt, die Äthylamingruppe in 1-Stellung sowie die OH-Gruppe in 5-Stellung besonders wichtig, wenngleich eine Substituierung der H-Atome an der Aminogruppe wie auch ein Fehlen der OH-Gruppe die Wirkung nicht aufhebt. Die OH-Gruppe und die nicht substituierte Aminogruppe an der Äthylseitenkette fördern wohl die Bildungsrate von Serotoninrezeptorkomplexen und erhöhen die "intrinsic activity" des 5-HT.

Auch bei den spezifischen 5-HT-Antagonisten an der Froschlunge fällt die Äthylamingruppierung auf, die offenbar für die Affinität zum Rezeptor nötig ist. Da diese Substanzen selbst keine Wirkung zeigen, scheint diese Gruppe aber nur in Verbindung mit der OH-Gruppe und dem

Indolring zur "intrinsic activity" beizutragen. Auch viele der unspezifischen Serotoninantagonisten besitzen die Äthylamingruppe, die anscheinend auch den Einbau in die ß-Rezeptoren der Froschlunge erleichtert. Der spezifisch serotoninantagonistische Effekt der Phenothiazinderivate CPZ und Promethazin an der Froschlunge ist überraschend, da diese Substanzen an anderen Präparaten besonders antihistaminisch, adrenolytisch und cholinergisch, wirken. Interessant ist auch die Struktur des Guanidinderivates B.W. 712C60, die von derjenigen anderer Antagonisten abweicht, aber die besten antagonistischen Eigenschaften zeigte. Die Guanidogruppe scheint also die günstigste Struktur für die Serotoninrezeptoren der Froschlunge zu besitzen. Gerade die Guanidinderivate sind aber ausgesprochene Blocker der neuralen Wirkung des 5-HT (Gyermek 1965), was also doch für eine neurale Wirkung des 5-HT an der Froschlunge spräche. Möglicherweise ist das B.W. 712C60 deshalb ein so guter Antagonist an der Froschlunge, weil es vielleicht beide, neurale wie auch muskuläre 5-HT-Rezeptoren blockt. Nun wurden für einige Guanide auch inhibitorische Wirkungen auf die D-Rezeptoren des Rattenuterus beschrieben, also auf Muskelzellen (Gyermek 1965). Dies könnte auch für die glatte Muskulatur der Froschlunge gelten. Zumindest spricht der Tetrodotoxinversuch gegen eine nur neurale Wirkung des 5-HT. B.W. 712C60 blockiert den Rezeptor fast vollständig, besitzt aber keine "intrinsic activity". Da auch die Guanidogruppe basisch ist, stärker noch als die Aminogruppe, scheint der Serotoninrezeptor eine anionische Komponente zu besitzen, die für die Affinität verantwortlich ist. Eine Ionenpaarbindung könnte hier zwischen einer Phosphorgruppe eines Nucleotids oder Phosphatids und der kationischen Aminogruppe des Serotonins bestehen, ähnlich wie es für die α- und ß-Rezeptoren angegeben wurde (Belleau 1963). Van der Waal'sche Bindungen zwischen dem Rezeptor

und dem Indolring des 5-HT würden den Kontakt verstärken. Die OH-Gruppe könnte eine Chelatbindung mit einem Metallion eingehen. Da an bestimmten Präparaten ein katalysierender Effekt des 5-HT auf das cyclische Adenosin 3,5 phosphat und die Phosphorylaseaktivität beobachtet wurde (Mansour 1960), muß auch auf die Möglichkeit hingewiesen werden, daß eine Bindung mit einem aus dem Rezeptor herausragenden ATP-Molekül zustande kommen könnte, mit dem dann die Aminogruppe des 5-HT ebenfalls eine Ionenpaarbindung, die phenolische Gruppe eine Chelatbindung eingehen könnten.

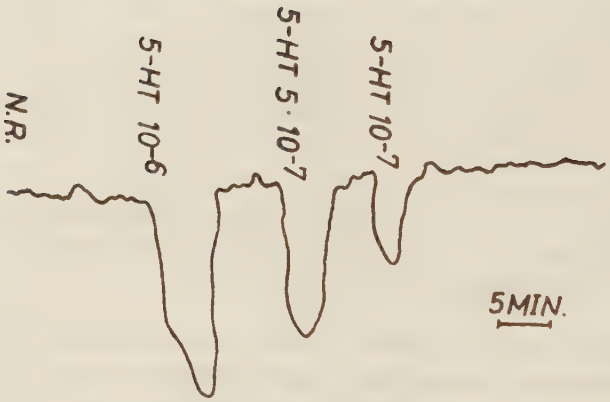
Die Ähnlichkeit der Wirkungen von Adrenalin und Serotonin, das völlig unterschiedliche Verhalten einiger Substanzen an verschiedenen Präparaten gegenüber dem Serotonin sowie die Tatsache, daß auch das Serotonin selbst differenzierte Wirkungen aufweist, an vielen Präparaten Kontraktion, z.B. an der Froschlunge aber Relaxation, zeigen die komplexe Natur der Serotoninrezeptoren, die sich offenbar schwer in ein einheitliches Schema einordnen lassen. Daher ist zur Zeit die Lücke zwischen der hypothetischen Funktion der pharmakologischen Rezeptorsysteme und dem Verhalten der für diese Rezeptoren möglicherweise spezifischen Substanzen in lebenden Organismen noch sehr ausgeprägt (Gyermek 1965) und bedarf zu ihrer Schließung noch weiterer Untersuchungen.

F. Zusammenfassung

Fast 80 Präparate aus über 18 pharmakologischen Stoffklassen wurden auf ihre serotoninhemmende Eigenschaft an der Froschlunge (Rana esculenta) geprüft. Zur Auswertung kamen der Zeitverlauf der Hemmung, ihre Reversibilität und Dosiswirkungsbeziehungen. Als antagonistisch wirksam erwiesen sich folgende Substanzen: BAB (1-Benzyl-2,5-dimethylbufotenin), BAS (1-Benzyl, 2-methyl, 5-methoxytryptamin), BAS-Phenol (1-Benzyl-2-methyl, 5-hydroxytryptamin), DBMC (N-ß-dimethylamino-äthyl-N-benzyl-m-methoxy-cinnamamid HCl), DPTC (2' (3-Dimethylaminopropylthio-) cinnamanilid HCl), Dibenzothiazepinderivate 18'271-Ba und 20'068-Ba, Guanidinderivate B.W. 712 C 60 und B.W. 545 C 64, Promethazin (Atosil^{R}), Chlorpromazin (Megaphen^{R}), RO 3-0837 (8-Chloro-2-methyl-1,3,4,5-tetrahydro-2-pyrid-(4,3,ß) indol), Imipramin (Tofranil^{R}), Desmethylimipramin (Pertofran^{R}). Die durch Unterstreichung gekennzeichneten Substanzen hemmen speziell nur Serotonin, die übrigen Serotonin und Adrenalin.

Es werden Rezeptortheorie sowie Art und Wirkung antagonistischer Stoffe besprochen. Ferner wird auf die Möglichkeiten der Wirkweise des Serotonin auf Strukturen der Froschlunge eingegangen.

Abb. I Relaxierende Wirkung verschiedener Serotoninkonzentrationen an der glatten Froschlungenmuskulatur.



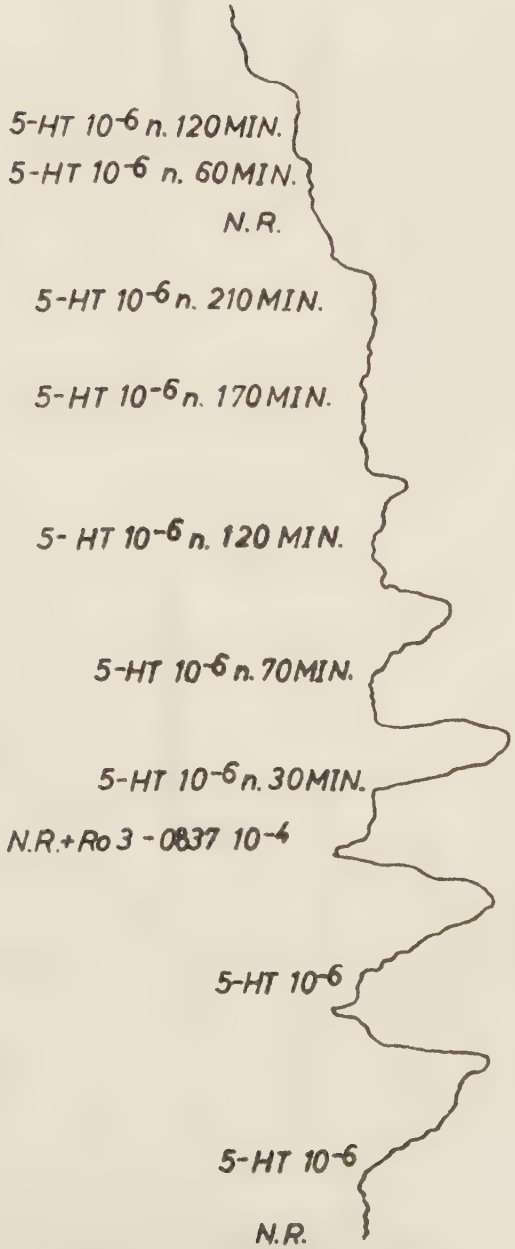


Abb. II Zeitverlauf der Hemmung von Serotonin durch Ro3-0837

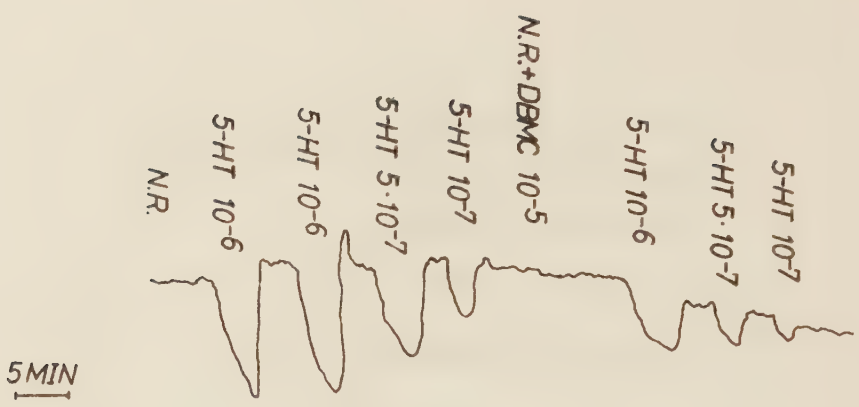


Abb. III Hemmung verschiedener Serotoninkonzentrationen durch DBMC

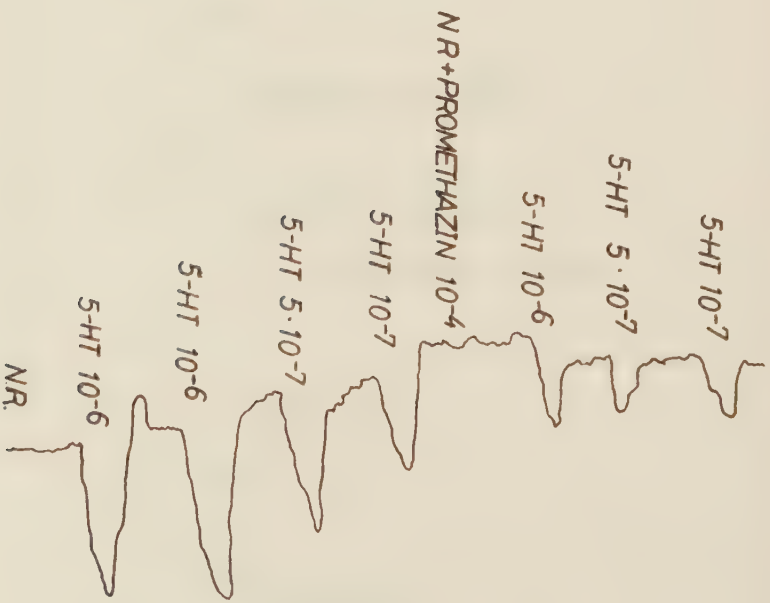


Abb. IV Hemmung verschiedener Serotoninkonzentrationen durch Promethazin

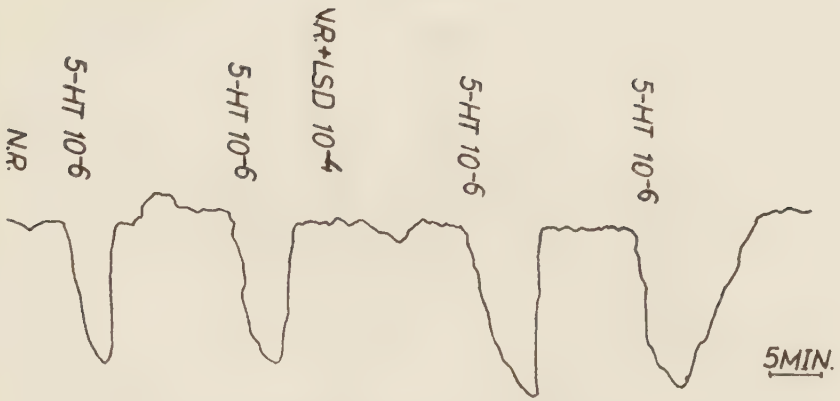


Abb. V Lysergsäurediäthylamid ohne serotonin-antagonistischen Effekt an der Froschlunge

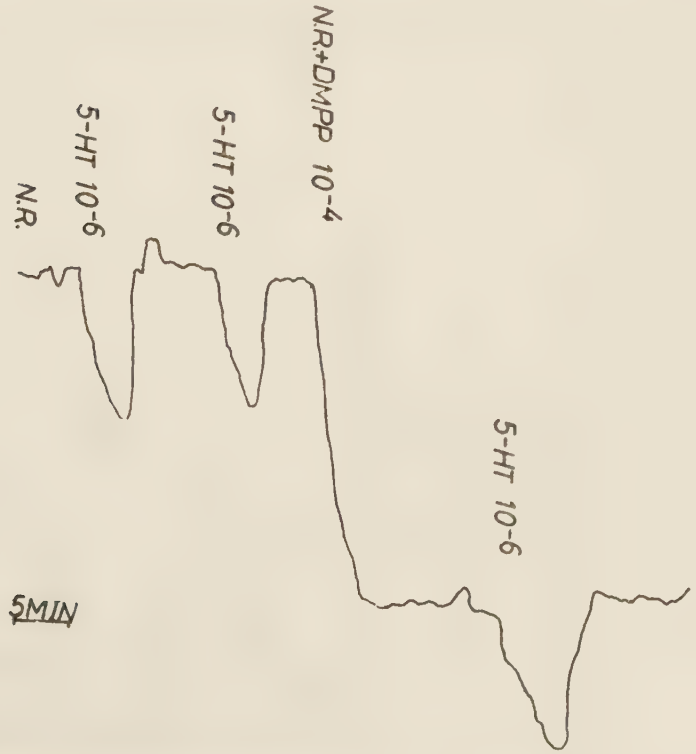


Abb. VI Eigenwirkung von DMPP und fehlende serotoninantagonistische Eigenschaft

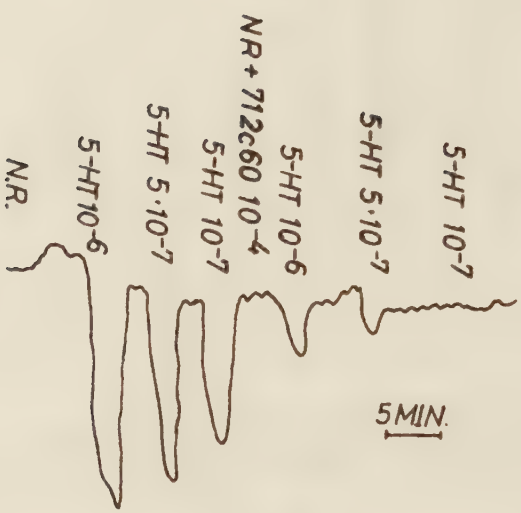


Abb. VII Starke Antiserotoninwirkung von 712 c 60

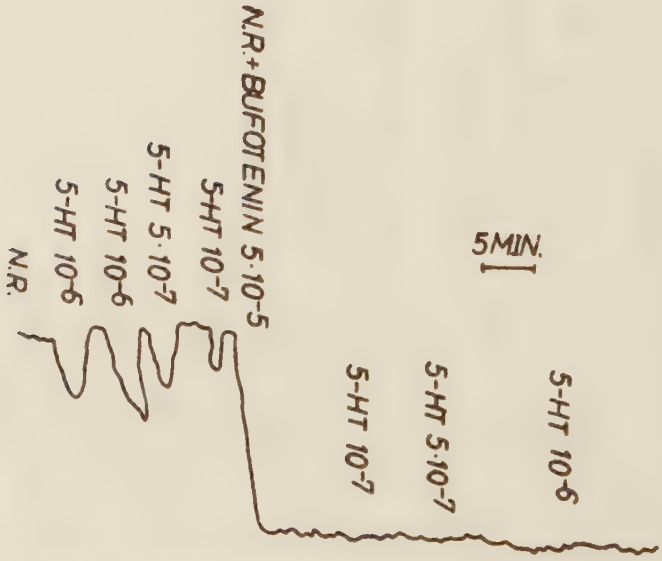


Abb. VIII Eigenwirkung von Bufotenin und wahrscheinlich serotoninantagonistischer Effekt

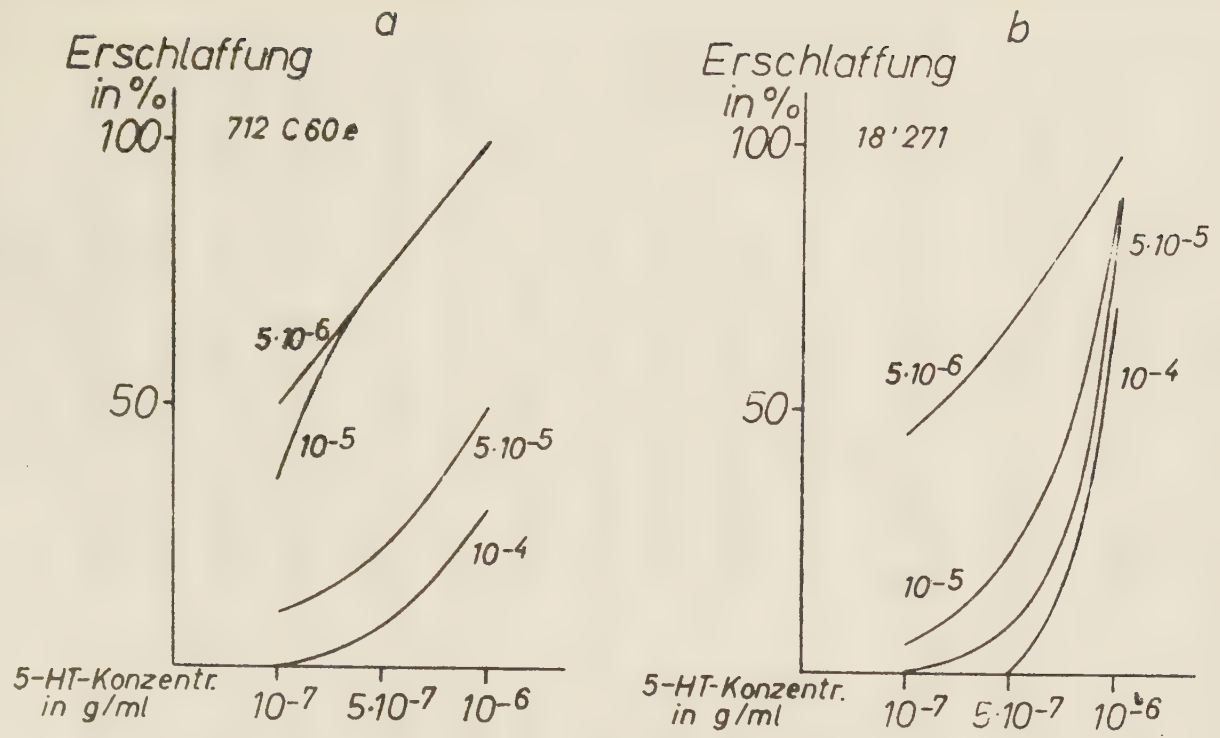


Abb. IX Dosiswirkungsbeziehung von a) 712 c 60 b) 18'271 und Serotonin

H. Literaturverzeichnis

1) BARLOW, R.B.: Brit.J.Pharmacol. 16, 153-162 (1961)

2) BARLOW, R.B. u. KHAN, J.: Brit.J.Pharmacol. 14, 99-107 (1959)

3) BELLEAU, B.: Proc. of the first Int.Pharmacol.Meeting Stockholm, 1961, Vol. 7

4) BERGER, F.M., CAMPBELL, G.L. HENDLEY, C.D., LUNDWIG, B.J. and LYNES, T.D.: Ann. N.Y. Acad.Sci. 66, 686-699 (1957)

5) BRECHT, K.: Klin.Wochenschr., 1087 (1940)

6) BRECHT, K.: Pflüg.Arch. 246, 555 (1943)

7) BRECHT, K.: Zeitschr.f.d.ges.exp.Med., 113, 579 (1944)

8) BRECHT, K.: Pflüg.Arch. 247, 649 (1944)

9) BRECHT, K.: Pflüg.Arch. 249, 94 (1947)

10) BRECHT, K.: Arch.exp.Path.u.Pharm., 214, 292 (1952)

11) BRECHT, K. CORSTEN, M. u. LULLIES, H.: Naturwissensch., 354 (1940)

12) BRECHT, K. u. CORSTEN, M.: Pflüg.Arch. 245, 160 (1941)

13) BRECHT, K. u. FRAESSLE, K.: Pflüg.Arch. 247, 649 (1944)

14) BRECHT, K. u. FREYER, A.: Pflüg.Arch. 250, 228 (1948)

15) BRECHT, K. u. JESCHKE, D.: Pflüg.Arch. 274, 385 (1962)

16) BRECHT, K. u. JESCHKE, D.: Zeitschr.f.Biol. 115, (1965)

17) BROWNLEE, G. u. JOHNSON, E.S.: Brit.J.Pharmacol. 21, 306-322 (1963)

18) CERLETTI, A. u. DOEPFNER, W.: J.Pharmacol.exp.Ther. 122, 124-136 (1958)

19) CERLETTI, A. u. KONZETT, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp.Path.Pharmak. 228, 146-148 (1956)

20) CERLETTI, A. u. ROTHLIN, E.: Nature (London) 176, 785-786 (1955)

21) CERLETTI, A. u. WEIDMANN, H.: Arch.int.Pharmacodyn. 139, 177-186 (1962)

22) COPER, H. u. SELBACH, H.: Der Internist, 9, 313-322 (1967)

23) COPP, F.C., GREEN, A.F., HODSON, H.F., RANDALL, A.W. u. SIM, M.F.: Nature (London) 214, (1967)

24) CORSTEN, M.: Pflüg.Arch. 244, 281 (1940)

25) COSTA, E.: Proc.soc.exp.Biol. (N.Y.) 91, 39-41 (1956)

26) CURTIS, D.R. u. DAVIS, R.: Brit.J.Pharmacol. 18, 217-246 (1962)

27) DAY, M. u. VANE, J.R.: Brit.J.Pharmacol. 20, 150-170 (1963)

28) DIJKSTRA, M. u. NOYONS, A.K.M.: Arch.int.Physiol. 49, 257 (1939)

29) DOEPFNER, W. u. CERLETTI, A.: Int.Arch.Allergy, 12, 89 -97 (1958)

30) DOMBRO, R.S. u. WOOLLEY, D.W.: Biochem.Pharmacol. 13, 569 -576 (1964)

31) DOMENJOZ, R. u. THEOBALD, W.: Arch.int.Pharmacodyn. 120, 450-488 (1959)

32) ERSPAMER, V.: Arch.int.Pharmacodyn. 93, 293 - 316 (1953)

33) ERSPAMER, V.: Science, 121, 369 - 370 (1955)

34) FRAHM, M.: Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp.Path.Pharmak. 232, 286 - 287 (1957)

35) FREIBURGER, W.A., GRAHAM, B.E., RAPPORT, M.M., SEAY, P.H., GOVIER, W.M., SWOAP, O.F. and van der BROOK, M.J.: J.Pharmacol.exp.Ther. 105, 80 - 86 (1952)

36) FURCHTGOTT, R.F.: J.Pharmacol.exp.Ther. 111, 265-284 (1955)

37) GADDUM, J.H.: J.Physiol. 121, 15 (1953)

38) GADDUM, J.H.: Ciba Symposium on Hypertension, 75 - 77, London (1954)

39) GADDUM, J.H.: 5-hydroxytryptamine, ed.by G.P.Lewis, 195 - 205, New York (1957)

40) GADDUM, J.H. u. HAMEED, K.H.: Brit.J.Pharmacol. 9, 240 - 248 (1954)

41) GADDUM, J.H., HATHAWAY, D.E. and STEPHENS, F.F.: Quart.J.exp.Physiol. 40, 49 - 74 (1955)

42) GADDUM, J.H. u. PAASONEN, M.K.: Brit.J.Pharmacol. 10, 474 - 483 (1955)

43) GADDUM, J.H. u. PICARELLI, Z.P.: Brit.J.Pharmacol. 12, 323 - 328 (1957)

44) GADDUM, J.H. u. SZERB, J.C.: Brit.J.Pharmacol. 7, 451 - 463 (1961)

45) GADDUM, J.H. u. VOGT, M.: Brit.J.Pharmacol. 11, 175 - 179 (1956)

46) GERSHON, M.D.: Brit.J.Pharmac.Chemother. 29, 259 - 279 (1967)

47) GINZELL, K.H. u. KOTTEGODA, S.R.: Quart.J.exp.Physiol. 38, 225 - 231 (1953)

48) GRETTE, K.: Acta pharmacol. (Kbh.) 13, 177 - 183 (1957)

49) GYERMEK, L.: Pharmacol.Rev. 13, 399 - 439 (1961)

50) GYERMEK, L.: Proc.of the J.U.P.S. XXII Int.Cong., Leiden 1962. Excerpta med. (Amst.) I/1, 28 - 36 (1962)

51) GYERMEK, L.: Handbook of Experimental Pharmacology XIX, 471 - 528 (1965)

52) HARRIS, L.S. u. UHLE, F.L.: J.Pharmacol.exp.Ther. 128, 258 - 262 (1960)

53) HARRY, J.: Brit.J.Pharmacol. 20, 399 - 417 (1963)

54) HENDRIX, T.R., ATKINSON, M. CLIFTON, J.A. u. INGELFINGER, F.J.: Amer.J.Med. 23, 886 - 893 (1957)

55) HERXHEIMER, H.: J.Physiol. (Lond.) 128, 435 (1955)

56) HERXHEIMER, H.: Arch.int.Pharmacodyn. 106, 371 -380 (1956)

57) HOLGATE, J.A. u. WARNER, B.T.: Brit.J.Pharmacol. 15, 561 - 566 (1960)

58) HOLTZ, P. u. PALM, D.: Arch.exp.Path.Pharmak. 252, 144 - 158 (1965)

59) HUKUHARA, T., NAKAYAMA, S. and NAUBA, R.: Jap.Physiol. 10, 420 - 426 (1960)

60) INNES, J.R.: Brit.J.Pharmacol. 19, 427 - 441 (1962)

61) JACOB, J.: Actualités Pharmacol. 13, 131 - 160 (1960)

62) JACOB, J. u. POITE-BEVIERRE, M.: Arch.int.Pharmacodyn. 127, 11 - 26 (1960)

63) JACQUES, R., BEIN, H.J. u. MEIER, R.: Helv.physiol.pharm. Acta, 14, 269 - 278 (1956)

64) JACQUES, R., ROSSI, A., URACH, E., BEIN, H.J. u. HOFFMANN, K.: Helv.chim.Acta, 42, 1265 - 1278 (1959)

65) JESCHKE, D.: Dissertation Tübingen (1965)

66) KRAPCHO, J., SPITZMILLER, E.R., TURK, C.F. u. FRIED, J.: J.Med.Chem. 7, 376 (1964)

67) KRAUS, D.: Dissertation Tübingen (1967)

68) MANSOUR, T.E.: Brit.J.Pharmacol. 12, 406 (1957)

69) MANSOUR, T.E., SUTHERLAND, E.W., RALL, T.W. u. BUEDING, E.: J.biol.Chem. 235, 466 - 470 (1960)

70) Mc ISAAK, W.M., KHAIRALLAH, P.A. u. PAGE, J.H.: Science, 134, 674 - 675 (1961)

71) MEIER, R., TRIPOD, J. u. WIRZ, E.: Arch.int.Pharmacodyn. 109, 55 - 77 (1957)

72) MICHELSON, A.L., HOLLANDER, W. u. LOWELL, F.C.: I.J.Lab. clin.Med. 51, 57 - 62 (1958)

73) MORSDORF, K. u. BODE, H.H.: Arch.int.Pharmacodyn. 118, 292 - 297 (1959)

74) MOUSSATCHE, H. u. ALVAREZ PEREIRA, N.: Acta physiol.lat. amer. 7, 71 - 75 (1957)

75) NORTHOVER, B.J. u. SUBRAMANIAN, G.: Brit.J.Pharmacol. 18, 346 - 355 (1962)

76) OUTSCHOORN, A.S. u. JACOB, J.: Brit.J.Pharmacol. 15, 131 - 139 (1960)

77) PAGE, J.H.: Physiol.Rev. 38, 277 - 335 (1958)

78) PAGE, J.H. u. Mc CUBBIN, J.W.: Amer.J.Physiol. 174, 436 - 444 (1953)

79) PATON, W.B.: Proc.roy.Soc. B. 154, 21 - 69 (1961)

80) QUADBECK, G. u. RÖHM, E.: Hoppe-Seylers Z.physiol.Chem. 297, 229 - 237 (1954)

81) RAPPORT, M.M. u. KOELLE, G.B.: Arch.int.Pharmacodyn. 92, 464 - 470 (1952)

82) ROCHA, E., SILVA, M. VALLE, J.R. u. PICARRELLI, Z.P.: Brit.J.Pharmacol. 8, 378 - 388 (1953)

83) ROSE, J.C. u. LAZARO, E.J.: Circulat.Res. 6, 283 - 288 (1958)

84) SCHAEPPI, U.: J.Pharmacol.exp.Ther. 139, 330 - 336 (1963)

85) SCHMID, E., ZICHA, L., SCHEIFFARTH, F. u. BUTTNER, O.: Arzneimittel-Forsch. 9, 474 - 476 (1959)

86) SCHNIZER, W.: Dissertation Tübingen (1966)

87) SHAW, E. u. WOOLLEY, D.W.: J.biol.Chem. 203, 979 - 989 (1953)

88) SHAW, E. u. WOOLLEY, D.W.: J.Pharmacol.exp.Ther. 111, 43 - 53 (1954)

89) SHAW, E. u. WOOLLEY, D.W.: J.Pharmacol.exp.Ther. 116, 164 - 176 (1956)

90) SINKA, Y.K. u. WEST, G.B.: J.Pharmacol. 5, 370 - 374 (1953)

91) SOLLERO, L., PAGE, J.H., SALMOIRAGHI, G.C.: J.Pharmacol. exp.Ther. 117, 10 - 15 (1956)

92) STONE, C.A., WENGER, H.C., LUDDEN, C.T., STAVORSKI, J.M. u. ROSS, A.C.: J.Pharmacol.exp.Ther. 131, 73 - 84 (1961)

93) STORMORKEN, H.: Arch.int.Pharmacodyn. 119, 232 - 237 (1959)

94) THEOBALD, W. u. DOMENJOZ, R.: Arzneimittel-Forsch. 8, 18 - 19 (1958)

95) TRENDELENBURG, U.: Brit.J.Pharmacol. 12, 79 - 85 (1957)

96) TRENDELENBURG, U.: J.Pharmacol.exp.Ther. 130, 450 - 460 (1960)

97) TOIDA, N. u. OSA, T.: Abst. XIII Int. Cong. Physiol.Sci. Tokio, p. 94 (1965)

98) TWAROG, B.M.: J.cell.comp.Physiol. 44, 141 (1954)

99) TWAROG, B.M.: J.Physiol. (Lond.) 152, 236 (1960)

100) TWAROG, B.M.: J. Gen. Physiol. 50, Heft 6 (1967)

101) UDENFRIEND, S.: 5-Hydroxytryptamine von G.P.Lewis, p.43 London (1958)

102) VANE, J.R.: Brit.J.Pharmacol. 12, 344 - 349 (1957)

103) VILLANI, F., LANG, J. u. PAPA, D.: J.Amer.chem.Soc. 76, 87 (1954)

104) WESEMANN, W. u. ZILLIKEN, F.: Biochem.Pharmac. 16, 1773 - 1779 (1967)

105) WILHELMI, G.: Helv.physiol.pharmacol.Acta, 15, 83 (1957)

106) WILHELMI, G. u. SCHINDLER, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp.Path.Pharmak. 236, 49 - 51 (1959)

107) WILKINS, R.W. u. HOLLANDER, W.: Circulation, 16, 256 - 262 (1957)

108) WOOLLEY, D.W.: Nature (Lond.) 180, 630 - 633 (1957)

109) WOOLLEY, D.W. u. GOMMI, B.W.: Proc.nat.Acad.Sci. (Wash.) 53, 959 - 963 (1965)

110) WOOLLEY, D.W. u. SHAW, E.: Ann. N.Y. Acad.Sci. 66, 649 - 667 (1957)

111) WURZEL, M.: Am.J.Physiol. 211, 1424 - 1428 (1967)

112) ZAKUSOR, V.V.: Farmakol.i.Toksikol. 26, 131 - 138 (1963)

Herrn Professor Dr. Brecht möchte ich danken für die Überlassung des Themas, den Arbeitsraum, der mir im Physiologischen Institut zur Verfügung gestellt wurde und die freundliche Unterstützung, die mir im ganzen Institut zuteil wurde.

Besonderen Dank schulde ich auch Herrn Dr. Schnizer, der mich in die Arbeitsmethodik einführte und mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite stand.

Folgenden Personen und Firmen sei für ihre freundliche Unterstützung und Bereitstellung von in dieser Arbeit verwandten Substanzen herzlich gedankt:

1. Aldrich Chemical Company, Inc.
   Milwankee, Wisconsin, U.S.A.

2. Dr. med. A. Cerletti, Medizinisch Biologische Forschung der Firma Sandoz AG, Basel, Schweiz

3. Chemische Fabrik Promonta GmbH, Hamburg

4. Dr. F.C. Copp, The Wellcome Research Laboratories Langley Court, Beckenham, Kent, England

5. Prof. Dr. med. R. Domenjoz, Geigy AG, Basel, Schweiz

6. Farbenfabriken Bayer AG, Leverkusen

7. Walter B. Gall, M.D., Merk, Sharp a. Dohme Research Laboratories, Division of Merk a. Co. Rakway, New Jersey, U.S.A.

8. Laszlo Gyermek, M.D., Stanford University School of Medicine, Department of Anesthesia, Palo Alto, California, U.S.A.

9. Hoffmann-La Roche AG, Grenzbach, Baden

10. Dr. med. Jacob, Sandoz AG, Nürnberg

11. Dr. med. R. Jacques, Wissenschaftl. Labor der Ciba AG, Basel, Schweiz

12. Knoll AG, Ludwigshafen

13. The Lilly Research Laboratories, Eli Lilly a. Co., Indianapolis, Indiana, U.S.A.

14. Merk Institute for Therap. Research, West Point, Pennsylvania, U.S.A.

15. Parke, Davis a. Co., Detroit, Michigan, U.S.A.

16. Dr. phil. H. Rochau, Tübingen

17. Elliot N. Shaw, Department of Biology, Brookshaven National Laboratories, Associated Universities, Inc., Upton, L.J. New York, U.S.A.

18. Prof. Dr. med. Gaynor Wild, The Rockefeller University, Department of Biochemistry,New York, U.S.A.

19. Dr. med. M. Wurzel, Department of Physiology, University of Ottawa, Ottawa, Canada

Lebenslauf

Am 3.12.1944 wurde ich, Jan Augustin, als Sohn des Dr.med. Kurt Augustin und seiner Ehefrau Maria, geb. Beyer, in Schleswig geboren. Schon ein Jahr später übersiedelten meine Eltern nach Niebüll, wo ich 1951 in die Grundschule eintrat. 1955 wechselte ich auf das hiesige Friedrich-Paulsen-Gymnasium und bestand dort im Frühjahr 1964 die Reifeprüfung.

Im Sommersemester 1964 begann ich an der Universität in Tübingen das Studium der Medizin und absolvierte hier am 1. April 1967 das Physikum. Das erste klinische Semester verbrachte ich noch in Tübingen, dann wechselte ich für ein Semester an die Universität Innsbruck, um im Frühjahr 1968 in Heidelberg weiter zu studieren, wo ich meine Ausbildung mit dem Staatsexamen der Medizin im Juli 1970 abschloß.